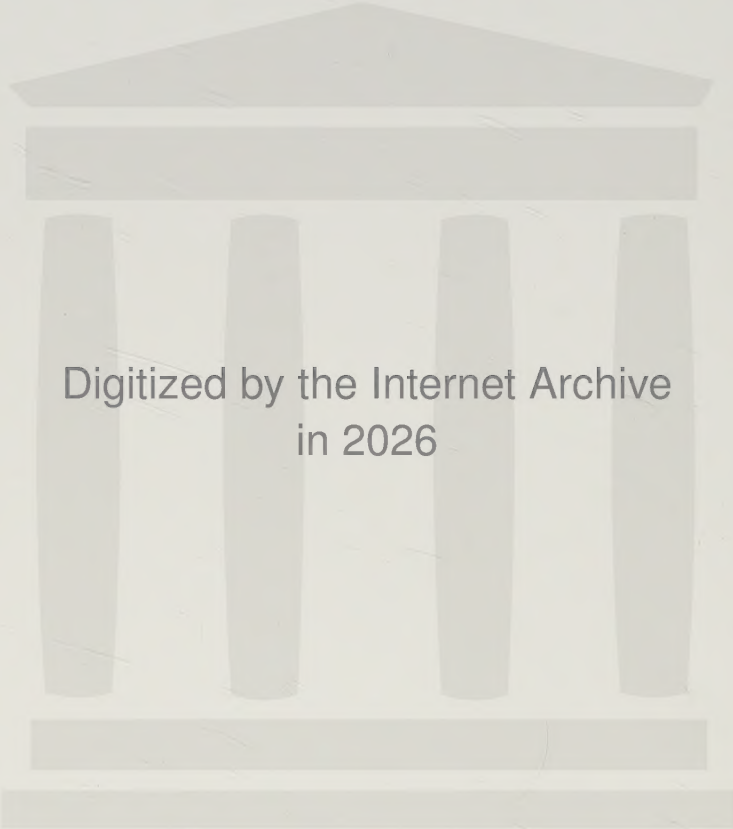


**HISTAMINFREISETZUNG BEI MENSCHEN
DURCH NARKOTIKA
UND BLUTERSATZMITTEL:
BESTIMMUNGSMETHODEN UND
KLINISCHE BEDEUTUNG**

**Rolf-Christian Meyer
München 1975**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551907_0049

Aus der Anaesthesieabteilung
(Vorstand: Prof. Dr. med. A. DOENICKE)

der Chirurgischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. F. HOLLE)

**HISTAMINFREISETZUNG BEI MENSCHEN
DURCH NARKOTIKA UND BLUTERSATZMITTEL:
BESTIMMUNGSMETHODEN UND KLINISCHE BEDEUTUNG**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Rolf-Christian Meyer

aus Breslau-Lissa

München 1975

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. A. Doenicke

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. Holle

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Dezember 1975



Meinen Eltern gewidmet

I N H A L T

1.	<u>EINLEITUNG</u>	
1.1.	Vorkommen und klinische Bedeutung von Histaminfreisetzung beim Menschen	1
1.2.	Lokalisation und Stoffwechsel von Histamin	5
1.3.	Probleme des Nachweises von der Histaminfreisetzung beim anaphylakti- schen Schock des Menschen	7
2.	<u>ZIEL DER ARBEIT</u>	11
3.	<u>MATERIAL UND METHODE</u>	
3.1.	Material und Probanden	12
3.2.	Versuchsanordnung bei den Probanden für die Prüfung der Narkotika	15
3.3.	Versuchsanordnung bei der Prüfung von Haemaccel am Menschen	18
3.4.	Methodik	18
3.4.1.	Histaminbestimmung in Vollblut und Plasma des Menschen	18
3.4.1.1.	Bestimmung von Histamin im Gesamt- blut (Dowex-Methode)	20
3.4.1.2.	Bestimmung von Histamin in mensch- lichem Plasma (kombinierte Methode)	21
3.4.1.3.	Identifizierung von Histamin im Plasma und Spezifität der Methode	24

3.4.1.3.1.	Isolierung von Histamin aus menschlichem Plasma (modifizierte Kombinationsmethode)	24
3.4.1.3.2.	Bestimmung der isolierten Substanz als Histamin	25
3.4.2.	Bestimmung der Magensäuresekretion (LORENZ et al. 1969)	28
3.4.3.	Bestimmung von Herzfrequenz und Blutdruck	28
3.4.4.	Bestimmung der basophilen Granulozyten im peripheren Venen- und Kapillar-Blut	29
3.4.5.	Statistische Methoden	29

4. ERGEBNISSE

4.1.	Histamingehalt im menschlichen Plasma und Gesamtblut	30
4.2.	Identifizierung von Histamin im menschlichen Plasma	34
4.3.	Histaminfreisetzung durch Propanidid und Thiopental	37
4.4.	Plasmahistaminspiegel bei Menschen nach Infusion von Haemaccel	48

5. DISKUSSION 53

6. ZUSAMMENFASSUNG

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG

1.1. Vorkommen und klinische Bedeutung von Histaminfreisetzung beim Menschen

Histamin ist als ein biologisch sehr aktiver Wirkstoff bekannt. Am Menschen stimuliert es die Magensaft- und Speichelsekretion, senkt den arteriellen Blutdruck, verursacht Tachykardie und steigert die Gefäßpermeabilität im Mikrozirkulationsbereich. Außerdem kontrahiert es die glatte Muskulatur der Bronchien und des Gastrointestinaltraktes (LORENZ und PFLEGER, 1968).

Die Freisetzung von endogenem Histamin, hauptsächlich aus Maststellen, führt zu den gleichen biologischen Reaktionen und entsprechend den gleichen klinischen Syndromen, wie sie sonst nach der parenteralen Verabreichung von Histamin beobachtet werden. Es können nur gewisse Abweichungen bei den pathophysiologischen Reaktionen nach Histamin auftreten, die aber auf die Freisetzung anderer vasoaktiver Substanzen aus aminenthaltenden Zellen zurückgeführt werden müssen, z.B. von Katecholaminen. Auch spielt der Ort der Histaminfreisetzung eine Rolle. Freigesetztes Histamin aus dem Darm passiert z.B. nur geringfügig die Leberbarriere.

Es sind sehr verschiedene Schwellenkonzentrationen von Histamin im Plasma notwendig, um zu verschiedenen Effekten des biogenen Amins im Körper zu führen. Gemäß LORENZ et al. (1972), die durch die Infusion steigender Dosen von Histamin steigende Histamin-Spiegel im Plasma

erzeugten, ist beim Menschen die empfindlichste Reaktion auf Histamin die Stimulierung der Magensekretion (1 - 3 ng/ml Plasma). Dann folgt die Tachykardie (4 - 6 ng/ml Plasma), während eine signifikante Blutdrucksenkung erst bei Plasma-Histamin-Konzentrationen von 6 - 10 ng/ml gemessen werden kann.

Diese Beobachtungen erklären, warum die Zunahme des Plasma-Histaminspiegels, die während der Operation beobachtet wird, in der Regel nur eine Anregung der Magensäuresekretion verursacht (LORENZ et al. 1974).

Normalpersonen reagieren auf die Anästhesie und andere prä- und intraoperative Maßnahmen (Blutersatz, Muskelrelaxans) nur mit einer geringfügigen Histaminfreisetzung. Jedoch treten bei Patienten in einzelnen Fällen und unter verschiedenen pathophysiologischen Bedingungen, wie Sepsis, Störung der Blutgerinnung und Fibrinolyse, Aktivierung des Komplementsystems durch Immunglobuline oder durch das C 3-Aktivatorsystem ebenso wie nach Sensibilisierung eine massive Histaminfreisetzung auf (LORENZ et al. 1974). Diese Histaminfreisetzung ist begleitet von den klinischen Symptomen einer schweren anaphylaktischen bzw. anaphylaktoiden Reaktion.

Solche Zwischenfälle wurden früher schon berichtet: Während und nach Operationen, nach der Anwendung von Atropin, Propanidid, Thiopental, Muskelrelaxantien und Analgetica (LORENZ und DOENICKE, 1973), nach Infusion von Plasmasubstituten (LORENZ et al. 1974). Schließlich komplizierten schwere anaphylaktoide Reaktionen (Blutdruckabfall, Herzstillstand) den Verlauf

von Lebertransplantationen, wobei in bestimmten Phasen der Operation das Auftreten von Histamin im Kreislauf nachgewiesen werden konnte (LORENZ et al. 1973). Es ist nicht genügend bekannt, daß Histaminfreisetzung aus dem Gastro-Intestinal-Trakt oft nicht von Hautsymptomen begleitet ist. Ein arterieller Blutdruckabfall bei Operationen allein wird praktisch nie einer Histaminfreisetzung zugeschrieben.

Auch die Freisetzung relativ kleiner Histaminmengen, die nur zu einer Erhöhung des Plasmahistaminspiegels auf 1 - 3 ng/ml führen, sind von klinischer Bedeutung. Die Zunahme der Magensäuresekretion kann, wie beobachtet bei einem von 4 Patienten, die Propanidid erhielten (persönliche Mitteilung DOENICKE), die Aspiration von Magensaft verursachen. Histaminfreisetzung ist möglicherweise von größerer Bedeutung bei der Entwicklung postoperativer Streß-Ulcera (SEIDEL et al. 1973). Nach KATZ und SIEGEL (1968) ist eine Dosis exogenen Histamins, welche nur eine mittlere Magensaftsekretion verursacht, in der Lage, hämorrhagische Erosionen in der menschlichen Magenschleimhaut zu verursachen. Die Plasmahistaminspiegel, welche bei einer solchen Dosis exogenen Histamins (LORENZ et al. 1972) erreicht wurden, sind sehr ähnlich denen, welche postoperativ bei 6 Patienten gemessen wurden (LORENZ et al. 1974). Diese Ergebnisse zeigen, daß man nicht die Möglichkeit ausschließen kann, daß endogenes Histamin bei der Bildung akuter Gastroduodenalulcera beim Menschen eine Rolle spielt.

Betrachten wir die Histaminfreisetzung bei chirurgischen Eingriffen, so wurde gezeigt, daß nicht die Krankheiten, sondern die therapeutischen Maßnahmen für die Erhöhung der Plasma-Histaminkonzentrationen verantwortlich waren (LORENZ et al. 1974). Die Operation selbst hatte wahrscheinlich dabei nur einen geringen Effekt. Auch der extrakorporale Kreislauf kann eine Histaminfreisetzung mit unerwünschtem Nebeneffekt verursachen (MEYER-BURGDORFF et al. 1973).

Als Erklärung für diese anaphylaktoiden und allergischen Reaktionen müssen verschiedene Mechanismen betrachtet werden:

1. Chemische Histaminfreisetzung als direkter Effekt auf die Histaminspeicher (Chemical liberators) (PATON, 1956, 1957).
2. Histaminfreisetzung indirekt auf Grund oder in Verbindung mit einer Hypoxie, Hypercapnie und Azidose (co-liberators) (MONGAR und SCHILD, 1955).
3. Histaminfreisetzung auf Grund von immunologischen Prozessen, zum Beispiel nach der Sensibilisierung oder durch eine Kreuz-Allergie.
4. Freisetzung von Kininen, Serotonin, slow reacting substance (SRS) und Prostaglandinen in Verbindung mit der Freisetzung von Histaminica oder mit neutralen Mechanismen (z. B. Parasympathikum).

Wir wählten Propanidid und Thiopental für unsere Untersuchungen der Histaminfreisetzung nach Gabe von

Narkotika und Haemaccel bei Plasmasubstitution aus, weil in der letzten Zeit und speziell bei Thiopental auch früher mehrere Berichte über Anaphylaxie und anaphylaktoide Zwischenfälle im Zusammenhang mit der Anwendung dieser Mittel berichtet wurden. Nach der Verwendung von Propanidid berichten die folgenden Autoren Zwischenfälle mit den klinischen Symptomen einer anaphylaktischen Reaktion: BECK, 1965; MICHEL 1965; RADWAY 1965; MANZ und FRANK, 1969; KAY, 1969, DOENICKE und LORENZ, 1970, JOHNS, 1970, DANNEMANN und LÜBKE, 1970; KRÜGER, 1970.

Nach Thiopental wurden folgende Fälle publiziert: HUNTER, 1943; MOORE, 1946; HAYWARD und KESTER, 1957; STRUNK, 1962, SHINOHARA und INAMOTO, 1965; CURRIE et al., 1966; CURRIE und BUCHANAN, 1967; ANDERTON und HOPTON, 1968.

Die Infusion von Haemaccel und anderen Plasmasubstanzen auf Gelatinebasis erhöhte den Histaminspiegel im Gesamtblut des Hundes (MESSMER et al. 1970). Auch beim Menschen haben wir über Histaminfreisetzung durch Dextran und Gelatine bereits berichtet (LORENZ et al., 1970 a; LORENZ et al., 1971; LORENZ et al., 1973 a; SEIDEL et al., 1973).

Lokalisation und Stoffwechsel von Histamin

Histamin ist im menschlichen und tierischen Organismus weit verbreitet (LORENZ et al. 1973 b). Chemisch gehört es zur Gruppe der biogenen Amine, wozu auch Serotonin und die Katecholamine zählen, und wird nach seiner Strukturformel als β -Imidazolyläthylamin bezeichnet. Im tierischen und bakteriellen Organismus entsteht es durch De-

carboxylierung aus der Aminosäure L-Histidin (LORENZ und PFLEGER, 1968). Die Enzyme, die diese Reaktion katalysieren, werden Histidindecaboxylasen genannt. Die pharmakologische Inaktivierung von Histamin bei Mensch und Tier erfolgt in erster Linie durch oxydative Desaminierung der Seitenkette in Gegenwart von Diaminoxidasen oder Methylierung in Stellung 1 des Imidazolkerns unter der Wirkung von Histaminmethyltransferase (LORENZ und PFLEGER, 1968).

Ein Sonderfall der biologischen Inaktivierung des Histamins ist seine Speicherung im Gewebe. Die Hauptspeicherorgane sind meist auch die mit dem größten Histamingehalt: Gastrointestinaltrakt, Lunge und Haut. In der Muskulatur ist der Histamingehalt relativ niedrig, doch wird dieser Speicher durch seine große Masse bei Histaminfreisetzung bedeutsam. Im Gastrointestinaltrakt ist Histamin vor allem in Magen und Dünndarm lokalisiert (LORENZ et al. 1973 b).

Auf zellulärer Basis sind in erster Linie die Mastzellen die Speicher des Histamins. Sie färben sich mit basischen Farbstoffen, z. B. Toluidinblau, metachromatisch und sind damit in den meisten Fällen zu identifizieren (LORENZ et al. 1969).

Folgende Zellarten wurden bisher als Histaminspeicher nachgewiesen (LORENZ und PFLEGER, 1968).

1. Unspezifische Mastzellspeicher, die in den meisten Geweben vorkommen,

2. gewebspezifische Histaminspeicher, die nur in einem oder in wenigen Geweben vorkommen.

Die unspezifischen Mastzellspeicher kommen nur in typischen Mastzellen vor, deren Histamin durch die Referenzsubstanz 48/80 liberiert werden kann. Die spezifischen Speicher kommen dagegen nur in atypischen Mastzellen im Magen-Darm-Trakt, in APUD-Zellen, in Insel- und Hypophysenvorderlappenzellen sowie in Nervenendigungen des ZNS vor. Ihr Histamin wird z. B. durch Reserpin als Referenzsubstanz freigesetzt.

Aus den spezifischen und unspezifischen Histaminspeichern wird nun Histamin nicht nur durch Referenzsubstanz, sondern auch durch eine große Zahl von Pharmaka freigesetzt, die bei Narkosen Verwendung finden.

Probleme des Nachweises von der Histaminfreisetzung beim anaphylaktischen Schock des Menschen

Mit folgenden Methoden läßt sich die Histaminfreisetzung beim Menschen nachweisen:

1. Durch direkte Methoden, wie Histaminbestimmung im Plasma und Vollblut.
2. Durch indirekte Methoden, wie Kreislaufreaktionen, Magensaftsekretion, Bronchospasmus, Erythem- und Ödembildung und die teilweise oder vollständige Hemmung dieser Reaktionen durch Antihistaminika vom H_1 - und H_2 -Typ.

Die optimale und am meisten spezifische Methode von allen genannten Verfahren stellt die Histaminbestimmung im Plasma dar. Eine Erhöhung des Histamins im Plasma entspricht dabei einer Histaminfreisetzung, deren pharmakologische Reaktionen zudem noch durch Bestimmung der Magensaftsekretion und von Kreislaufparametern festgestellt werden sollten. Inzwischen gibt es vier Methoden zur Bestimmung von Histamin im Plasma: nach ADAM et al. (1957) biologisch am überströmten Meerschweinchenileum, nach GRAHAM et al. (1968) fluorometrisch nach Reinigung über Decalso und Butanolextraktion, nach LORENZ et al. (1970 b) fluorometrisch nach Reinigung über Dowex 50 und Butanolextraktion und nach MILLER et al. (1970) in Form einer enzymatischen Doppelisotopenverdünnungsmethode. Die Spezifität unserer Methode (LORENZ et al. 1970 b, 1972 a) haben wir durch Fluoreszenzspektrum und enzymatischen Abbau der isolierten Substanz mit gereinigter Diaminoxydase und Histaminmethyltransferase nachgewiesen (LORENZ et al., 1972 a). Der Mittelwert normaler Plasmahistaminkonzentrationen beim Menschen liegt bei 0,6 ng/ml Plasma, was bei allen vier genannten Bestimmungsmethoden übereinstimmt. Die Extremwerte betragen 0,3 und 1,4 ng/ml Plasma.

Die Bestimmung von Histamin im Plasma ist eine Voraussetzung für den Beweis der Histaminfreisetzung beim Menschen durch Anästhetika. Bis zur Zeit, in der die oben genannten Methoden entwickelt wurden, existierten keine zufriedenstellenden Verfahren, mit denen der niedrige Zuwachs der Plasma-Histaminkonzentration zu messen war. Die von anderen Autoren gefundenen Histaminwerte im Verlauf einer Periode von mehr als 30 Jahren (Übersicht s. LORENZ et al. 1972 b, 1974 a) waren entwe-

der hundertmal zu hoch oder lagen unter der notwendigen Empfindlichkeit der Methoden (z. B. unter 3 ng/ml).

Die zu hohen "Histaminwerte" waren durch fluoreszierende Substanzen nach Kondensation mit o-Phthaldialdehyd bedingt, welche nicht oder nicht genügend vom Histamin während des Reinigungsvorganges getrennt werden konnten (LORENZ et al. 1970 b).

Die Bestimmung von Histamin im menschlichen Vollblut für die Messung der Histaminfreisetzung, ist mit einer Reihe von Problemen behaftet. Wie PATON (1957) schon bemerkte, muß die Bestimmung zugleich eine Erfassung des Gehaltes an corpusculären Elementen im Blut möglich machen, so daß sich während der Histaminfreisetzung der Gehalt an diesen corpusculären Elementen nicht verändert. Da Histamin im menschlichen Blut fast ausschließlich in den basophilen Leukozyten lokalisiert ist (GRAHAM et al., 1955; LORENZ et al., 1972 a), hängt die Histaminkonzentration im Gesamtblut von dem absoluten Gehalt dieser Zellen im Blut ab. Außerdem ist der große Unterschied zwischen Plasma und Gesamtblut-Histaminspiegeln beim Menschen (Verhältnis etwa 1:100) der Grund, warum nur ein großer Zuwachs von Plasmahistamin, wie er bei schweren Zwischenfällen gesehen wird (LORENZ et al., 1972 b) zuverlässig durch eine Histaminbestimmung im Gesamtblut gemessen werden kann und auch dann nur, wenn die basophilen Zellen konstant bleiben. Da jedoch die Zunahme von Histamin im Gesamtblut nicht nur freies Histamin ist, ist die Bestimmung dieses Amins beim menschlichen Gesamtblut als eine Methode für die Bestimmung der Histaminfreisetzung durch

Anästhetika und Muskelrelaxantien von beschränktem Wert und sollte kombiniert werden mit indirekten Messungen, wie Magensaftsekretion, Herz- oder Pulsfrequenz oder Blutdruck.

Indirekte Methoden zur Bestimmung der Histaminfreisetzung sind nicht spezifisch, daher sollten mehrere der folgenden Bestimmungen zusammengefaßt werden, um die Spezifität der Bestimmung zu erhöhen: Bestimmung des Blutdruckabfalles als sogenannte "delayed depressor response", Tachykardie, Hämokonzentration, Magensaftsekretion, Anstieg des Bronchialwiderstandes bis zum Bronchospasmus, Erythem, Ödem (Hauttest) usw. Die Verhinderung klinischer Symptome durch Antihistaminika ist auch eine indirekte Methode, eine Histaminfreisetzung zu prüfen, obwohl die Spezifität der Antihistaminika viel geringer ist als angenommen wird (WERLE und LORENZ 1970). In Zukunft sollten alle indirekten Methoden mit einer Bestimmung des Plasmahistamins kombiniert werden.

ZIEL DER ARBEIT

- .1. Es sollte eine fluorometrische Methode zur Bestimmung von Histamin im Vollblut und Plasma erarbeitet werden, die sich als genügend empfindlich und spezifisch für die Messung von Histaminfreisetzung am Menschen erwies.
- .2. Die auf Grund ihrer Fluoreszenz gemessene Substanz sollte durch chemische und biochemische Verfahren als Histamin identifiziert werden (Spektren, Abbau durch gereinigte Diaminoxidase und Histaminmethyltransferase).
- .3. Nach Applikation von Narkotika und deren Lösungsmittel sowie von Haemaccel sollte die Histaminfreisetzung beim Menschen gemessen werden.
- .4. Bei klinischen Zwischenfällen nach Propanidid sollte beim Menschen die Frage einer massiven Histaminfreisetzung beantwortet werden.

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Material und Probanden

Die Untersuchungen wurden an 143 freiwilligen gesunden Versuchspersonen und einem Patienten durchgeführt. Die Zustimmung war in jedem Falle gegeben worden. Die freiwilligen Versuchspersonen waren 140 männliche und 2 weibliche Studenten und Anästhesisten zwischen 22 und 31 Jahren. Gewicht zwischen 54 und 100 kg.

Der eine Patient hatte einen komplizierten Splitterbruch des linken Unterschenkels und einen komplizierten Bruch des rechten Oberschenkelknochens infolge eines Betriebsunfalles. Er war Alkoholiker, aber im übrigen klinisch gesund und hatte keine auffällige Vorgeschichte. Vor jeder Narkose fasteten die Testpersonen und der Patient mindestens 12 Stunden.

Pharmaka

Propanidid 5 % (Bayer, Leverkusen) (Epontol^R):

Die Ampulle besteht aus Propanidid (5%), Mizellophor (20 %), Natriumchlorid und Phosphatsalzen sowie Wasser, zubereitet nach den Anweisungen der Herstellerfirma.

Mizellophor:

Die Ampulle besteht aus 20 % ORPE (oleum ricini polyoxyäthylate Elberfeld), Natriumchlorid und Phosphatsalzen sowie Wasser, wie von den Herstellern fest-

gesetzt. Mizellophor enthält die hydrophoben Anteile von Cremophor EL (BASF, Ludwigshafen), das bis 1967 in verdünnter Form als Lösungsmittel für Propanidid verwendet wurde. Cremophor besteht aus Ricinolsäure, Polyglykolestern, Glycerin und Polyglykoläthern (Abb. 1).

Thiopental (Trapanal, Abbott), gelöst in physiologischer Kochsalzlösung - Haemaccel^R (BEINING, WERLE) - Atropinsulfat (Univ.-Apotheke), Ringerlösung (Univ.-Apotheke).

Reagenzien

Histamindihydrochlorid puriss. (Fluka, Buchs), (umkristallisiert aus Petroläther, Siedepunkt 40 - 60°) Methanol, n-Heptan, anorganische Säuren und Basen als Uvasol^R (Merck, Darmstadt), n-Butanol (Riedel de Haen, Seelze bei Hannover), Dowex 50-X8 H⁺, Mesh 200-400 (Serva, Heidelberg).

Wenn nicht anders angegeben, wurden alle Substanzen in zweimal destilliertem Wasser gelöst. Heparin (für biochemische Untersuchungen, 180 I.U./mg), (Hoffmann La Roche, Grenzach), 0,1 N Natronlauge für die Titration des Magensaftes (Titrisol, Merck, Darmstadt) - Türk's Lösung für die Leukozytenzählung (Eisen, Enzianviolett) - May-Grünwald's Lösung (Eosin-Methylenblau) und Giemsa-Lösung (Azur-Eosin-Methylenblau) (Merck, Darmstadt).

The Detergent Cremophor EL

Cremophor EL
(mixture)

hydrophobic
components (ORPE)
(84 %)

1. ricinoleic acid,
polyglycol esters
2. glycerol, polyglycol
ethers

hydrophilic
components
(16 %)

1. polyglycols
2. glycerol, polyglycol
ethers

Abb. 1: Chemische Zusammensetzung des Lösungsvermittlers
Cremophor EL

3.2. Versuchsanordnung bei den Probanden für die Prüfung der Narkotika

Die Tests wurden vormittags zwischen 7 und 9 Uhr in einem ruhigen, gut beleuchteten Raum durchgeführt. Die Anästhesie erfolgte bei Spontanatmung. Die Testpersonen, an denen alle Parameter simultan gemessen wurden, wurden in folgender Weise untersucht (Abb. 2):

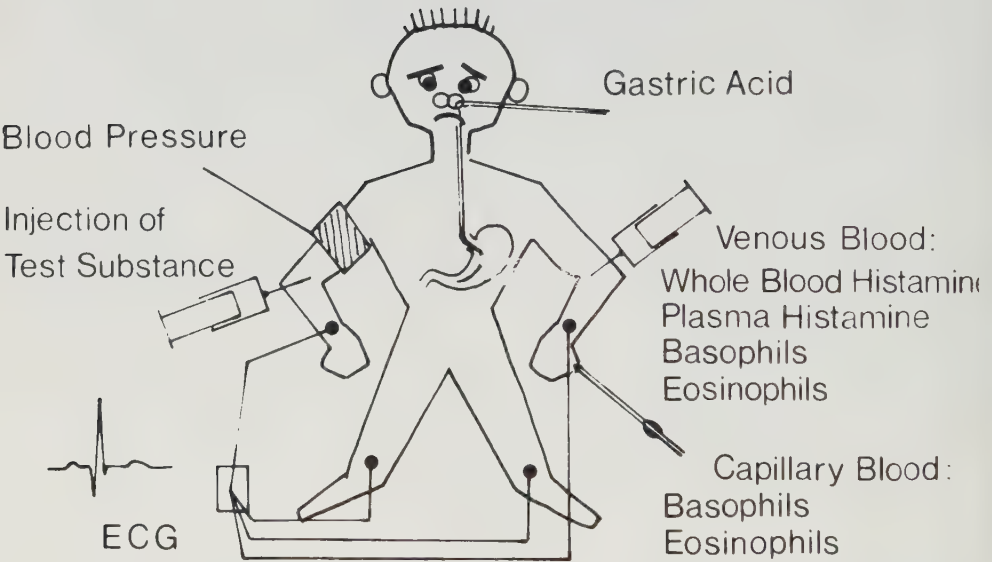


Abb. 2.: Versuchsanordnung für die Prüfung der Histaminfreisetzung durch Narkotika.

Im Anfang wurde eine Nasogastraltube mit Röntgenkontraststreifen in den Magen eingeführt. Die Lage der Sonde wurde röntgenologisch kontrolliert und, wenn notwendig, korrigiert. Nachdem der Schlauch an der Nase fixiert war, wurde die Testperson auf ein Sofa gelegt. Dabei war der Oberkörper leicht erhöht. Leitungen für das EKG wurden an den Extremitäten angebracht und ein Blutdruckmeßgerät (Riva-Rocci) wurde am rechten Oberarm befestigt.

Dann wurden in den rechten und linken Unterarm Polyäthylen-Kanülen (Braunüle, Braun-Melsungen) in die oberflächliche Vene eingeführt. Die rechte Kanüle wurde für die Injektion des Anästhetikums, des Lösungsmittels und andere Pharmaka gebraucht, die linke für die Messung des Blutdrucks, für die Histaminbestimmung im Plasma und Gesamtblut und auch für die Leukozytenzählungen und die Blutaussstriche. Kapillarblut wurde aus den Fingern der linken Hand entnommen, um die Leukozyten zu zählen und Differenzialbilder anzufertigen. Wenn 1 oder 2 der Parameter nicht gleichzeitig gemessen wurden, dann blieb die Reihenfolge der noch durchzuführenden Messungen bestehen, wie oben angegeben.

Um dieses Programm durchzuführen, war ein gut eingearbeitetes Team von wenigstens 5 Personen einschließlich 2 Anästhesisten absolut notwendig. Wenn bei irgendeiner Untersuchung ein Lösungsmittel oder ein Wirkstoff an ein und derselben Testperson angewandt und mit anderen Stoffen verglichen wurde, dann wurde die Reihen-

folge der Anwendung beider Lösungen alternierend gehandhabt. Zum Beispiel wurde einer Person Mizellophor zuerst gegeben und dann Propanidid, der nächsten Person zuerst Propanidid und dann das Lösungsmittel. Die Zeit zwischen der ersten und zweiten Untersuchung betrug immer 2 - 4 Wochen.

3.3. Versuchsanordnung bei der Prüfung von Haemaccel am Menschen

Entsprechend der Technik von MESSMER et al. (1970) wurden 500 ml Blut innerhalb von 3 Minuten (ca. 2 ml/kg und min) unter Verwendung einer Einrichtung, wie sie für Blutspenden gebraucht wird, abgenommen. Dasselbe Volumen eines Plasmaersatzmittels (500 ml Haemaccel oder Ringer-Lösung) wurde 37° warm mit einer Geschwindigkeit von 2 ml/kg und min, infundiert, unter Druck und 30 sek. später. Blut für die Plasmin-Histaminbestimmung wurde vor und nach der Blutspende ebenso wie 1, 5, 10, 20 und 30 Minuten nach der Infusion des Plasmaersatzmittels abgenommen.

3.4. Methodik

3.4.1. Histaminbestimmung in Vollblut und Plasma des Menschen

Von dem linken Unterarm wurden 5 ml Blut mit einer Polyäthylen-Kanüle entnommen, sofort in ein Zentrifugenglas mit 5 ml 1N HClO₄ gegeben und dann 5 Minuten lang bei 1800 U zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde mehrere Tage in einer Kühltruhe bei -20° aufbewahrt und später für die Histaminbestimmung im Vollblut verwandt.

Sofort nach der Entnahme der Blutprobe für die Histaminbestimmung im Blut wurden 2 Proben für die Histaminbestimmung im Plasma abgenommen. Für jede Probe benötigten wir 19,5 ml Blut, die langsam abgenommen wurden und mit äußerster Sorgfalt, um Blasen zu verhindern, unter Benutzung einer Polyäthylen-Spritze mit 2 mg Heparin in 0,5 ml einer 0,9 %igen NaCl-Lösung gemischt wurden. Dann wurde die Probe langsam mit nur leichtem Druck in ein 30 ml Polyäthylen-Zentrifugenglas gegeben, das in einem eiskalten Wasserbad vorgekühlt war, 30 Minuten bei 1000 U und $1 - 2^{\circ}\text{C}$ zentrifugiert und 6 ml Plasma genommen. Oberhalb der Trennzone zwischen Plasma und corpuskulären Elementen verblieb 1 cm Plasma, in dem sich einige Thrombozyten und gelegentlich auch Leukozyten suspendiert befanden. Dann wurde die Probe sofort mit 2 ml 2N HClO_4 gemischt und 10 Minuten bei 1800 U zentrifugiert. Der Überstand wurde als Ganzes entweder sofort für die Histaminbestimmung verwendet oder in einem Gefrierschrank bei -20° zur Histaminbestimmung mehrere Tage gelagert.

Besonders zu beachten:

- a) Auf keinen Fall wurde Blut für die Plasma-Histaminbestimmung aus einer gerade neu gestochenen Vene entnommen. Ungefähr 5 ml Blut sollten abgenommen sein, bevor die Plasmaprobe gesammelt wurde.
- b) Eine Erwärmung der Blutproben über 5°C während der Herstellung des Plasmas muß vermieden werden, weil ein Anstieg des Histamins im Plasma auf doppelte Werte bei ungefähr 8° gefunden wurde.

Am vorteilhaftesten befindet sich die Kühlzentrifuge in dem Raum, wo auch das Blut abgenommen wird.

- c) Bei der beschriebenen Sammelmethode ist es außergerwöhnlich selten, daß eine Hämolyse auftritt. Doch in diesem Fall war die Histaminkonzentration im Plasma ungefähr 3 - 4 mal höher als in der nicht-hämolytischen Probe. Blutproben, die eine Hämolyse zeigen, müssen verworfen werden.

3.4.1.1. Bestimmung von Histamin im Gesamtblut (Dowex-Methode)

4 ml Gesamtblut wurden auf ein pH von 6,5 mit 2N NaOH unter Verwendung einer Glas-Elektrode eingestellt und auf eine kleine Säule mit Dowex 50 W-X8, H^+ (0,3 x 2 cm) aufgetragen, die mit 0,1 M Natrium-Phosphat-Puffer (pH 6,5) äquilibriert ist. Die Säule wurde dann mit 0,1M Natrium-Phosphat-Puffer, pH 6,5, 1 ml doppelt destilliertem Wasser und 5 ml 1N Salzsäure gewaschen.

Histamin wurde eluiert mit 3 ml 4N Salzsäure. Für die fluorometrische Bestimmung wurde das Eluat mit dem gleichen Volumen zweifach destilliertem Wasser verdünnt.

1,7 ml dieses verdünnten Eluats wurde mit 0,8 ml 5N Natriumlauge und 0,1 ml o-Phthaldialdehyd (1 % w/v, in Methanol) gemischt. Genau zwei Minuten später wurden 0,6 ml einer 2M H_3PO_4 zugegeben und die Fluoreszenz in einem Zeiss-Spektrofluorometer bei einer Temperatur von $21 \pm 0,5^\circ C$ gemessen. Die Anregungswellenlänge war 360 nm, die Fluoreszenzwellenlänge 450 nm. Die Fluores-

zenz war stabil für mindestens 1 Stunde. Die Intensität war direkt proportional der Histaminkonzentration in einem Bereich von 1 - 700 ng Histamindihydrochlorid/ml des verdünnten Eluats. Von hinzugefügtem authentischen Histamin wurden auf diese Weise 95 - 100 % wiedergefunden. Variationskoeffizient 3,9 % (n=20).

3.4.1.2. Bestimmung von Histamin in menschlichem Plasma (kombinierte Methode)

Der gesamte Perchlorsäureextrakt von menschlichem Plasma wurde auf pH 6,5 eingestellt und an Dowex 50, wie oben beschrieben, chromatographiert. Das unverdünnte Eluat der Säule wurde dann auf pH 11,5 - 12 mit 5N NaOH eingestellt unter Verwendung einer Glas-Elektrode und mit einer Schüttelmaschine (Bühler) 20 Minuten lang in einem 25 ml Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen mit 1,5 g festem Natriumchlorid und 10 ml n-Butanol geschüttelt. Unter Modifizierung der Methode von SHORE et al. (1959) wurde dann die Mischung 5 Minuten lang bei 1800 xg zentrifugiert und die organische Phase abgezogen und 2 Minuten lang mit 5 ml kochsalzgesättigter 0,1 N NaOH in einem 25 ml Glasstopfen Erlenmeyer geschüttelt.

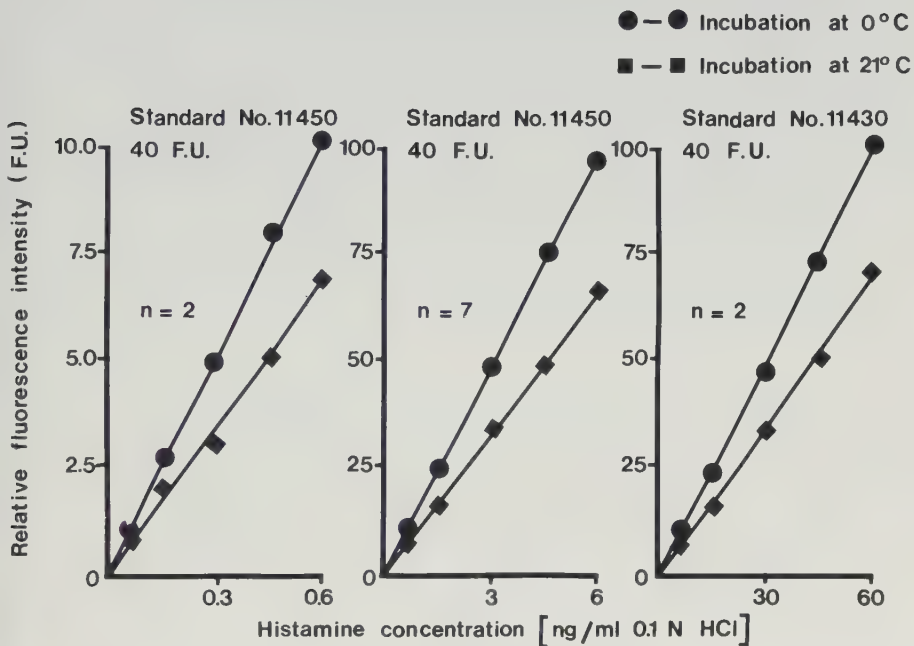
Nach dem 5 Minuten Zentrifugieren der Mischung bei 1800 xg wurde das Histamin wieder in die wässrige Phase durch Schütteln von 8 ml der organischen Phase zusammen mit 3 ml einer 0,1N HCl und 15 ml n-Heptan mindestens 6 Minuten lang in einem 50 ml Glasstopfen Erlenmayer aufgenommen. Diese Mischung wurde dann 5 Minuten lang bei 1800 xg zentrifugiert und die organische Phase sorgfältig durch Absaugen entfernt.

2 ml der wässrigen Phase wurden in einer Testküvette in einem 21⁰ Wasserbad gemischt mit 0,4 ml 1N NaOH und 0,1 ml o-Phthaldialdehyd (0,05 %, w/v, in Methanol gelöst). Nach genau 4 Minuten wurden 0,2 ml 3N Salzsäure hinzugefügt und die Fluoreszenz bei derselben Wellenlänge und Temperatur, wie oben beschrieben, gemessen.

Die Intensität der Fluoreszenz des säurestabilisierten Kondensationsproduktes blieb konstant für wenigstens 30 Minuten und war direkt proportional der Histamin-Konzentration im Bereich von 0,2 - 80,0 ng/ml einer 0,1N Salzsäure.

Eine Eichkurve ist in Abbildung 3 wiedergegeben.

Calibration Curves for the Determination of Plasma Histamine



0. 3.: Eichkurve für die Bestimmung von Histamin im menschlichen Plasma.

Eine Ausbeutebestimmung wurde mit authentischem Histamin, das dem Gesamtplasma in einer Menge von 3 oder 5 ng hinzugefügt wurde, durchgeführt ($70 \pm 4 \%$ (n=18)). Der Variationskoeffizient bei der Plasmahistaminbestimmung betrug nur 6 % (n=14).

Der Histamingehalt im Gesamtblut und Plasma wurde angegeben in Histaminbase/ml Körperflüssigkeit und korrigiert für den Histaminverlust, der durch den Isolierungsvorgang verursacht wurde.

.4.1.3. Identifizierung von Histamin im Plasma und Spezifität der Methode.

.4.1.3.1. Isolierung von Histamin aus menschlichem Plasma (modifizierte Kombinationsmethode)

Von 6 der untersuchten Personen wurde ein größeres Volumen Gesamtblut in 19,5 ml Mengen abgenommen und Plasmaextrakte hergestellt, wie in der analytischen Methode beschrieben. Die Perchlorsäureextrakte von 213 ml Plasma wurden in zwei Teile geteilt. Gemäß dem erwarteten Histamingehalt von ungefähr 100 ml Plasma dieser 3 Testpersonen wurden dem einen Teil 50 ng Originalhistamin hinzugefügt, um die Ausbeute zu bestimmen.

Beide Teile des Plasmaextrakts wurden völlig gleich von diesem Punkt an behandelt: Der Perchlorsäureextrakt wurde mit 2N Natronlauge unter Verwendung einer Glas-Elektrode auf pH 6,5 eingestellt und auf ungefähr 15 Dowex 50 Säulchen (ungefähr 10 ml wurden auf jede Säule aufgetragen)

gegeben. Nach der Chromatographie, wie oben beschrieben, wurden die unverdünnten Eluate gesammelt und in einem Vakuum-Rotationsverdampfer getrocknet (Rotavapor-R.Büchi) bei 35° C.

Der trockene Rückstand wurde in 4 ml bidestilliertem Wasser aufgelöst, mit 5N Natronlauge auf pH 11,5 - 12 eingestellt und dann in einem 25 ml Glasstopfen Erlenmeyer mit 10 ml n-Butanol 20 Minuten geschüttelt.

Weitere Extraktionen wurden gemäß SHORE et al. (1969) gemacht, wie oben beschrieben.

Die Konzentration der isolierten Substanz in 0,1N Salzsäure wurde fluorometrisch als "Histamin äquivalent" bestimmt (Histaminäquivalent anstelle von Histamin, bevor die Substanz isoliert und identifiziert war).

Nach der gesamten Prozedur wurde Histamin zu 70 - 84 % wiedergefunden (n=6).

4.1.3.2. Bestimmung der isolierten Substanz als Histamin

a) Fluoreszenz-Spektrum

Das Fluoreszenz-Spektrum der isolierten Substanz und von Original-Histamin wurde im Zeiss-Spektrumfluorometer gemessen. Die Wellenlänge wurde in 5 nm-Abständen abgelesen.

- b) Inaktivierung der isolierten Substanz durch eine gereinigte Diaminoxidase aus Erbsenkeimlingen.

Erbsenkeimlinge enthalten sehr viel Diaminoxidase. Diese wurde gemäß der Methode von WERLE et al. (1960), modifiziert nach KUSCHE (1970) gereinigt. Die Enzymaktivität wurde nach HOLMSTEDT und THAM (1959) während der ersten Stufen der Reinigung bestimmt. Cadaverin wurde als Substrat verwendet und die Bildung von Δ^1 -Piperidin gemessen. Für die Inkubationsbedingungen s. LORENZ et al. (1968). Nach Gel-Filtration über Sephadex G-100 wurde die Diaminoxidase-Aktivität bestimmt durch Messung der Bildung von Ammoniak gemäß LORENZ et al. (1967). Protein wurde mit der Biuretmethode und der 260/280-Methode bestimmt.

Zur Enzymreinigung wurden die Erbsen 24 Stunden lang in Seesand keimen gelassen, bis eine maximale Enzym-Aktivität entwickelt wurde. Nach Homogenisierung und mehrfachem Einfrieren und wieder Auftauen des Homogenats wurde der rohe Saft durch ein Nylongewebe abgepresst. Dann wurde das Eiweiß bei pH 5 mit einer Ammonium-Sulfat-Fraktionierung von 35 und 65 % präzipitiert. Das Präzipitat wurde über eine Sephadex G-50-Säule entsalzt und lyophilisiert. Ein Teil des Enzympräparates (850 mg Protein) wurde in 10 ml einer 0,02M Natrium-Phosphat-Puffer-Lösung, pH 7,4 wieder aufgelöst und auf eine Sephadex G-100-Säule (4,0 x 100 cm, äquilibriert mit 0,02M Natrium-Phosphat-Puffer, pH 7,4) gegeben.

Das Eluat wurde kontinuierlich bei 280 nm mit einem Ultraviolett-Absorptiometer (LKB 8300 A Uvivord II) kontrolliert und in 7 ml Fraktionen gesammelt. Die einzelnen Portionen wurden zur Bestimmung der Enzym-Aktivität verwendet. Nur zwei Proteinspitzen erschienen in dem Eluat. Dabei wurden im ersten Gipfel alle Fraktionen mit Enzymaktivität wiedergefunden. Die Fraktionen des ersten Gipfels wurden vereinigt und lyophilisiert. Die spezifische Aktivität dieses Enzympräparates war 0,40 U/mg Protein. Die Ausbeute war 24,5 % und die gesamte Reinigung, verglichen mit dem Homogenat, war 165fach. Das Enzym war mehrere Monate stabil bei einer Temperatur von -18°C , ohne jeden Aktivitätsverlust.

Die gereinigte Diaminoxidase (2,4 U/3 ml Ansatz) wurde gemäß LORENZ et al. (1971 a) mit derselben Konzentration der aus dem Plasma isolierten Substanz (Histamin-Äquivalent") inkubiert wie mit der von authentischem Histamin.

Die Geschwindigkeit der Abnahme beider Fluoreszenzen wurde fluorometrisch gemessen. Die isolierte Substanz und das Original-Histamin wurden als identisch angesehen, wenn sie dieselbe Inaktivierungsgeschwindigkeit zeigten.

3.4.2. Bestimmung der Magensäuresekretion (LORENZ et al., 1969 a)

Nach einer vollständigen Leerung des Magens mit einer manuell gehandhabten Sonde wurde über eine Nasen-Magen-Sonde die Magensalzsäure bestimmt. Die Basalsekretion wurde gesammelt durch Absaugen in Abständen von 2 Minuten über eine Zeit von 30 Minuten. Wenn Atropin angewandt werden mußte, mußte eine Dosis von 0,01 mg/kg i.v. 15 Minuten nach dem Beginn des Sammelns gespritzt werden. Am Ende der 30 Minuten wurde ein Anästhetikum injiziert und der Magensaft alle Minuten abgesaugt und in Portionen entsprechend den Blutabnahmen gesammelt. Das Volumen des Magensaftes wurde gemessen und die Säuremenge in jeder Portion durch Titrierung bis pH 7,0 unter Verwendung einer Glas-Elektrode bestimmt (LORENZ et al. 1969 a).

3.4.3. Bestimmung von Herzfrequenz und Blutdruck

Die Herzfrequenz (Schläge pro Minute) wurde mittels der Durchschnittsperiode mit dem Standard-EKG (HEINECKER, 1970) bestimmt. Der arterielle Blutdruck (in mm Hg) wurde indirekt gemessen mit dem Manometer (nach KIVA-ROCCI) entsprechend der Methode von BURTON (1965).

Da die Testpersonen alles junge Menschen waren, (sehr wenig oder gar keine arteriosklerotischen Veränderungen) waren die durch die indirekte Methode bestimmten Blutwerte ähnlich denen, welche

durch die direkte Methode erhalten wurden. Besonders die Blutdrucke, welche durch die indirekte Methode während der Anästhesie mit Propomid erhalten wurden, stimmten überein mit den durch die direkte Messung erhaltenen (HENSCHEL und BUHR, 1965).

3.4.4. Bestimmung der basophilen Granulozyten im peripheren Venen- und Kapillar-Blut

Zu derselben Zeit, zu der das Blut für die Histaminbestimmung abgenommen wurde, wurden zwei Blutausstriche und eine Leukozyten-Auszählung mit venösem und Kapillarblut gemacht. Die Leukozytenzählung wurde durchgeführt entsprechend MÜLLER et al. (1962), während das Differentialblutbild gemäß PAPPENHEIM ausgewertet wurde, wobei 1 000 Zellen aus jeder Probe gezählt wurden. Der Gehalt an basophilen Zellen im venösen und Kapillarblut wurde gemäß HAMERSTON et al. (1956) bestimmt. (Zahl der Leukozyten/mm³ und % Basophile im Blutausstrich.) Wie die Resultate von MOORE und JAMES (1953) und HAMERSTON et al. (1956) gezeigt haben, stimmten die Werte solcher indirekter Methoden mit denen der direkten Methode gut überein. Der Gehalt der Basophilen im Blut wird angegeben als Zahl der Zellen/mm³.

3.4.5. Statistische Methoden

Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung und der T-Test für Paare wurden mit einem Olivetti-Tischcomputer, Programm 102, errechnet.

4. ERGEBNISSE

4.1. Histamingehalt im menschlichen Plasma und Gesamtblut

Bei 54 gesunden jungen Versuchspersonen wurden im Durchschnitt $0,69 \pm 0,26$ ng/ml Histamin im Plasma gefunden, wie in Abb. 4 zu sehen ist. Die Werte stimmen gut überein mit denen von ADAM et al. (1957) ($0,6$ ng/ml) und denen von GRAHAM et al. (1968) ($0,62 \pm 0,3$ ng/ml). Die Extremwerte waren $0,1 - 1,4$ ng/ml. GRAHAM et al. (1968) fanden vergleichsweise Extremwerte von $0,1 - 1,4$ ng/ml.

Nur der eine Patient (Gr.Al.), der schwere anaphylaktoide Reaktionen auf Propanidid zeigte (s. LORENZ et al., 1972 b), hatte regelmäßig erhöhte Histaminspiegel. Im Verlauf von 17 Monaten waren die Blutuntersuchungen bei 10 verschiedenen Gelegenheiten unter den gleichen Bedingungen durchgeführt worden. Dieser Patient hatte einen Histaminspiegel von $7,4 \pm 3,2$ ng/ml und nicht ein einziges Mal einen normalen Wert. Während der Zeit der Krankheit variierten seine Werte zwischen einem Minimum von $3,2$ ng/ml bis zu einem Maximum von $13,5$ ng/ml. Jedoch waren die Werte an ein und demselben Tag innerhalb einer 2-Stundenperiode während der Untersuchung bemerkenswert konstant. Von 8 Proben innerhalb dieser Zeit schwankten seine Werte zwischen

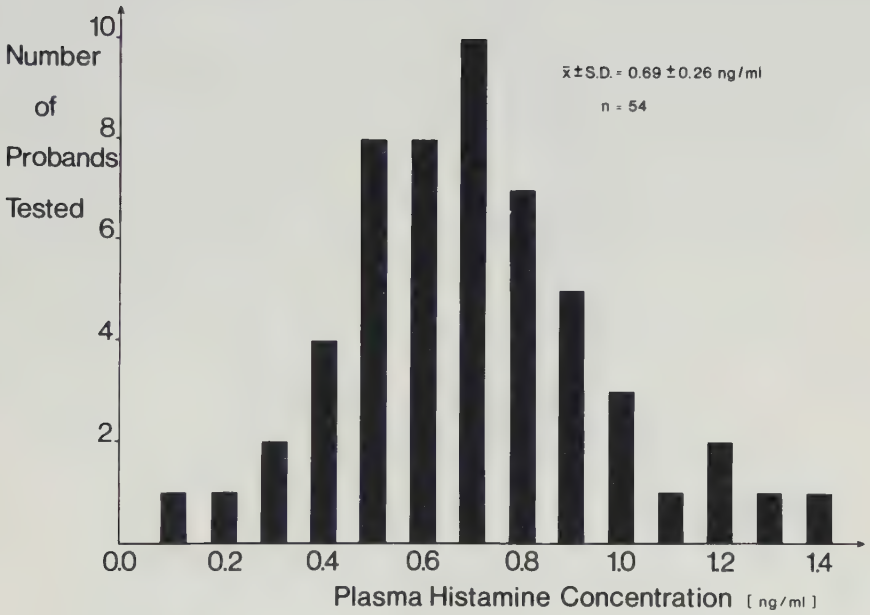


Abb. 4.: Histogramm für den Histamingehalt im menschlichen Plasma.

$6,6 \pm 0,4$ ng/ml (Variationskoeffizient 6,5 %) und bei anderen 8 Proben innerhalb von einer 2-Stundenperiode wurden $6,0 \pm 0,3$ ng/ml gemessen (Variationskoeffizient 4,4 %).

Beide Ergebnisse unterstreichen die Güte der Methode, welche offensichtlich kleine "technische Streuungen" aufzeigt. Nach unserer Kenntnis ist dies der erste Bericht über einen hohen Plasmahistaminspiegel bei einem Patienten, der in der Literatur berichtet wurde. Der Histaminspiegel im Vollblut dieses Patienten wurde innerhalb der Norm gefunden (54 ng/ml, s. unten).

Bei einer Gesamtzahl von 89 gesunden jungen Versuchspersonen war der Durchschnittswert für Histamin im Gesamtblut 54 ± 18 ng/ml (Abb. 5). Die extremen Werte lagen zwischen 17 - 86 ng/ml. Diese Werte stimmen gut überein mit den meisten in der Literatur. Das Histogramm der Histaminkonzentration im Gesamtblut zeigt zwei Spitzen. Es war schwierig zu entscheiden, ob dieses Ergebnis signifikant ist. Wahrscheinlich könnte die typische Normalverteilung durch die Untersuchung einer noch größeren Zahl von Probanden erhalten werden.

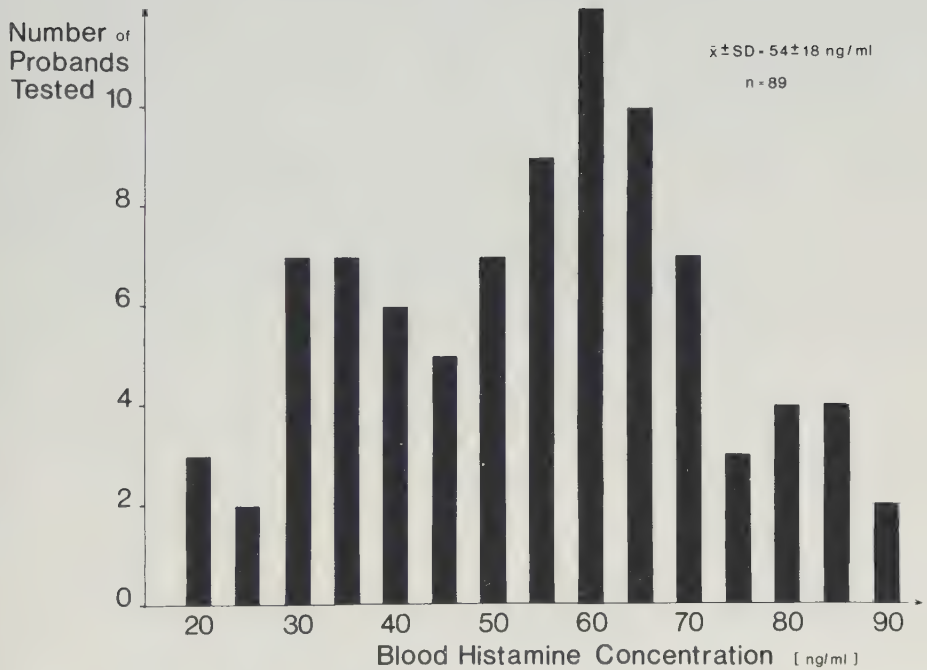


Abb. 5.: Histogramm für den Histamingehalt im menschlichen Vollblut.

4.2. Identifizierung von Histamin im menschlichen Plasma

Wie Abbildung 6 zeigt, sind die Fluoreszenzspektren der aus menschlichem Plasma isolierten Substanz und von Original-Histamin identisch. Auch unter Verwendung von gereinigter Diaminoxidase aus Erbsenkeimlingen und gereinigter Histamin-Methyltransferase aus der Schweine-Antrum-Mucosa wurde die aus Plasma isolierte Substanz mit derselben Geschwindigkeit abgebaut wie Original-Histamin. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten metabolisierte die Histamin-Methyltransferase praktisch 100 % beider Substanzen, Diaminoxidase reduzierte die Fluoreszenz um ungefähr 80 % (Abb. 7). Aus diesem Grunde ist die aus dem Plasma isolierte Substanz identisch mit Original-Histamin.

GRAHAM et al. (1968) kamen mit ihrer Methode unter Beziehung auf Spermidin zu dem Schluß, daß 65 - 100 % der fluoremetrisch gemessenen Substanz Histamin war. Dies beruhte auf der Tatsache, daß durch die Behandlung des Plasmas mit dem Decalso Spermidin nicht vollständig vom Histamin getrennt wurde. Aus diesem Grunde haben wir versucht, festzustellen, ob durch die Verwendung von Dowex 50 und der Butanol-Extraktion bei unserem Reinigungsverfahren Spermidin so vollständig von Histamin getrennt werden könnte, daß es nicht mit der Fluoreszenz des Histamins interferiert. Lösungen von Histamin, die 0,6 und 1,2 ng/ml

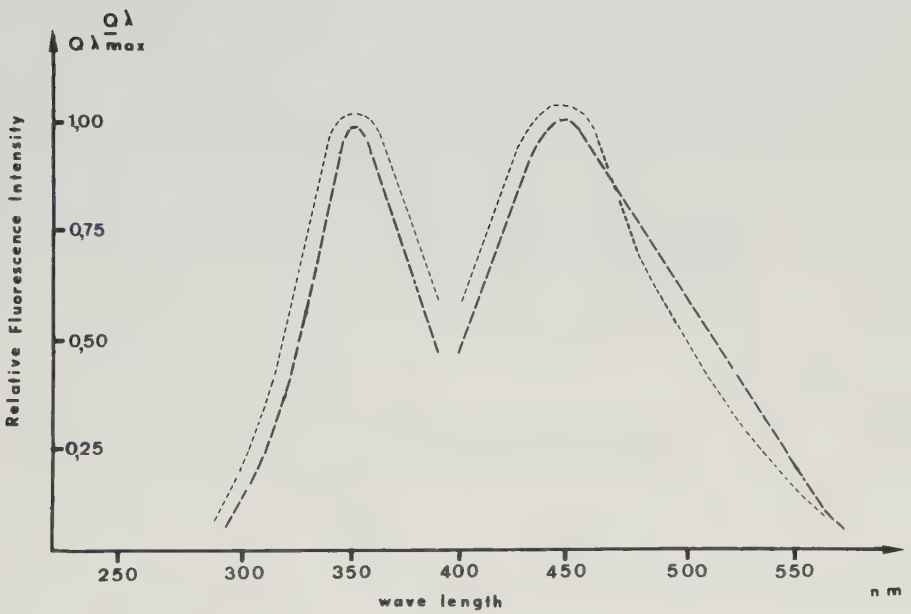


Abb. 6.: Fluoreszenzspektrum von authentischem Histamin(---) und der aus Plasma isolierten Substanz (· · · ·).

Incubation time [min]	Histamine methyltransferase		Diamine oxidase	
	Isolated substance [pmol]	Authentic histamine [pmol]	Isolated substance [pmol]	Authentic histamine [pmol]
0	216	219	135	142
10	142	147	46	48
20	59	72	31	34
30	0	8	29	32

Abb. 7.: Inaktivierung von Histamin und der aus Plasma isolierten Substanz durch gereinigte Diaminoxidase und Histaminmethyltransferase.

Histamin enthielten, wurden mit Lösungen, die 2, 10, 20, 50 und 100 ng Spermidin/ml enthielten, gemischt, dann mit einem Gesamtvolumen von 5 - 10 ml über Dowex 50 Säulen geschickt. Es wurde gefunden, daß durch die Ionenaustausch-Chromatographie sogar bei den höchsten Konzentrationen des zugefügten Spermidin eine völlige Trennung von Histamin stattfand, so daß kein Einfluß auf die Intensität und Wellenlänge des Histamin-o-Phthalaldehydhydkondensates nach Zufügung des Spermidins gemessen werden konnte.

Zu den gleichen Ergebnissen kamen wir, wenn wir Spermidin in wechselnden Konzentrationen dem Plasma zufügten. So scheint die Spezifität der Bestimmungsmethode für Plasmahistamin genügend gesichert zu sein.

4.3. Histaminfreisetzung durch Propanidid und Thiopental

Nach Injektion von Propanidid in Dosen, die üblicherweise für die Anästhesie beim Menschen angewandt wurden, stieg der Histaminspiegel im Plasma signifikant um ungefähr 350 % des Normalwertes an. Der höchste Wert wurde 5 Minuten nach der Injektion gefunden (Abb. 8). Die erhöhten Histaminspiegel blieben für einige Zeit nach Beendigung der Narkose erhalten. Bis zu 30 Minuten waren notwendig, bevor die Initialblutspiegel wieder erreicht waren. Die i.v. Anwendung von Atropin hatte keinen signifikanten Einfluß auf die Plasma-Histaminspiegel, obwohl dieser Wirkstoff als Histamin-Liberator bei Menschen, Hunden und

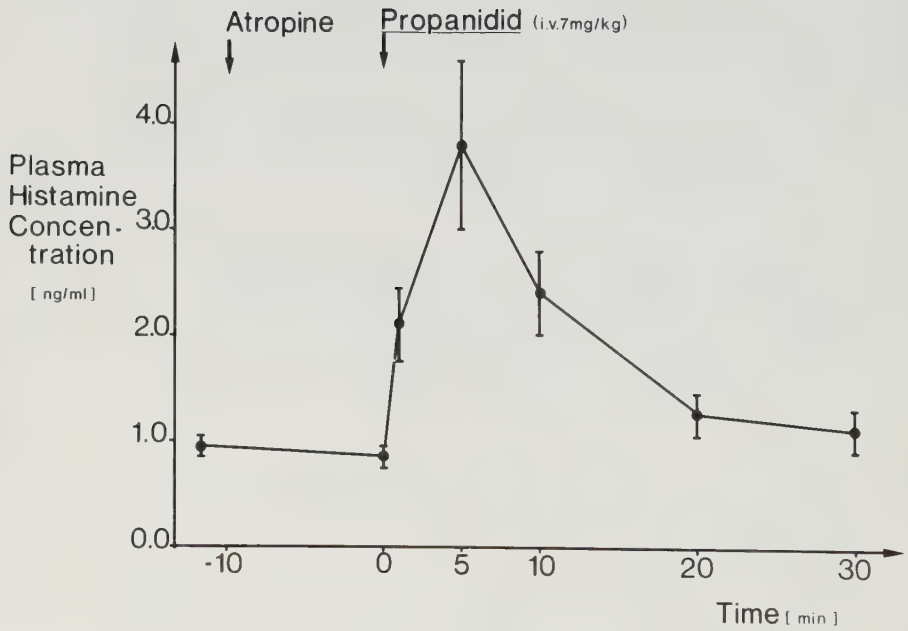


Abb. 8.: Anstieg der Plasma-Histaminkonzentration nach Injektion von Propanidid.

Es wurde behauptet, daß der Lösungsvermittler von Propanidid, Cremophor oder üblicherweise Mizellophor genannt, evtl. Histamin beim Menschen freisetzt. Wie andere Lösungsvermittler setzen beide bei Hunden und Katzen (LORENZ et al., 1971 b) Histamin frei, haben aber keine Wirkung beim Menschen (LORENZ et al., 1969, 1972 b). In dieser Studie wurden dieselben Probanden, die mit Propanidid behandelt waren, auch mit Cremophor und Mizellophor allein untersucht. Der Anstieg des Plasmahistaminspiegels um ungefähr 20 %, welcher bei den Versuchspersonen gefunden wurde, ist nicht statistisch signifikant.

Nach der Injektion von Mizellophor wurden bei keiner Versuchsperson, auch nicht bei der, welche auf Propanidid mit einem Zwischenfall reagierte, klinische Symptome festgestellt noch eine Zunahme der Plasmahistaminspiegel gefunden. So kann geschlossen werden, daß Propanidid (Narkotikum und Lösungsvermittler) und nicht Cremophor oder Mizellophor allein Histamin beim Menschen freisetzt.

Thiopental führte in den bei der Narkose gebräuchlichen Dosen auch zu einer Erhöhung des Histaminplasmaspiegels (Abb. 9). Das Ausmaß der Erhöhung war aber gleich dem bei Propanidid. Der Plasmahistaminspiegel fiel auch ungefähr in derselben Weise ab wie bei Propanidid. Der Lösungsvermittler für Thiopental war 0,9 % Na-

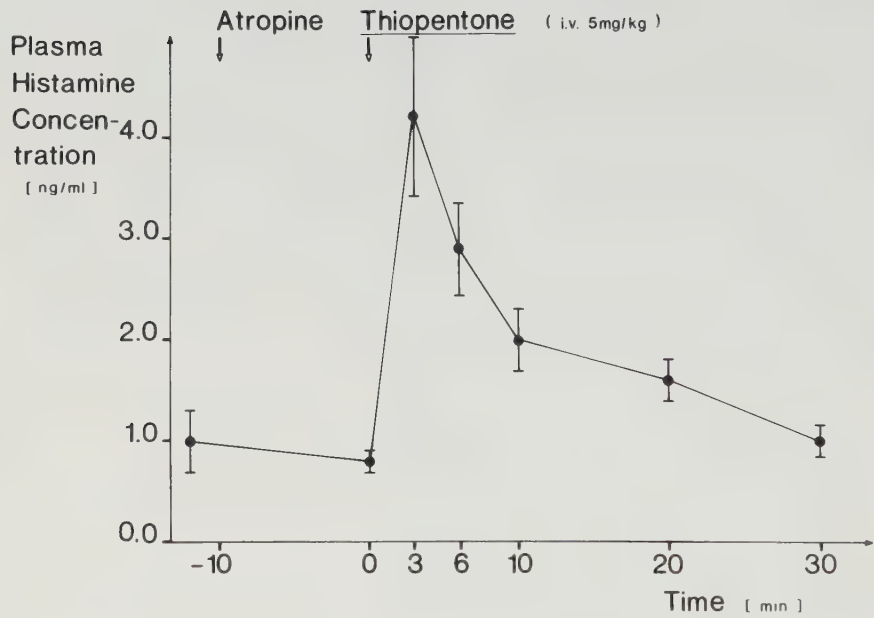


Abb. 9.: Histaminfreisetzung durch Thiopental.

triumchlorid-Lösung. Eine schnelle Injektion dieses Lösungsvermittlers führte niemals zu einem Ansteigen der Plasmaspiegel.

Bei 3 gesunden Studenten, welche auch in die Studie mit Narkotika einbezogen waren, wurden die folgenden zwei Fragen untersucht:

1. Erhöht die Histaminmenge, welche eine mäßige Steigerung der Sekretion der Magensäure verursacht, auch den Histaminspiegel?
2. Besteht eine Beziehung zwischen der infundierten Histamin-Dosis und der Erhöhung des Plasmahistaminspiegels?

Mit der neuentwickelten Histaminbestimmungsmethode im Plasma war es nun möglich zu zeigen, daß ein Ansteigen des Plasmahistaminspiegels nach Infusion relativ kleiner Dosen von Histamin (18 - 90 ng/kg/Min.) gemessen werden kann und daß eine Beziehung zwischen den infundierten Histamindosen und der Erhöhung des Plasmaspiegels besteht. So kann durch Bestimmung des Plasmahistaminspiegels nach Anwendung eines Narkotikums auch die Menge Histamin bestimmt werden, welche während der Behandlung freigesetzt wird (Abb. 10).

Histamin verursachte bis zu einer Dosis von 45 ng/kg/Min. keine Beschwerden oder klinischen Symptome bei 3 Versuchspersonen, obwohl das eine Dosis ist, welche eine halbmaximale Magensekretion

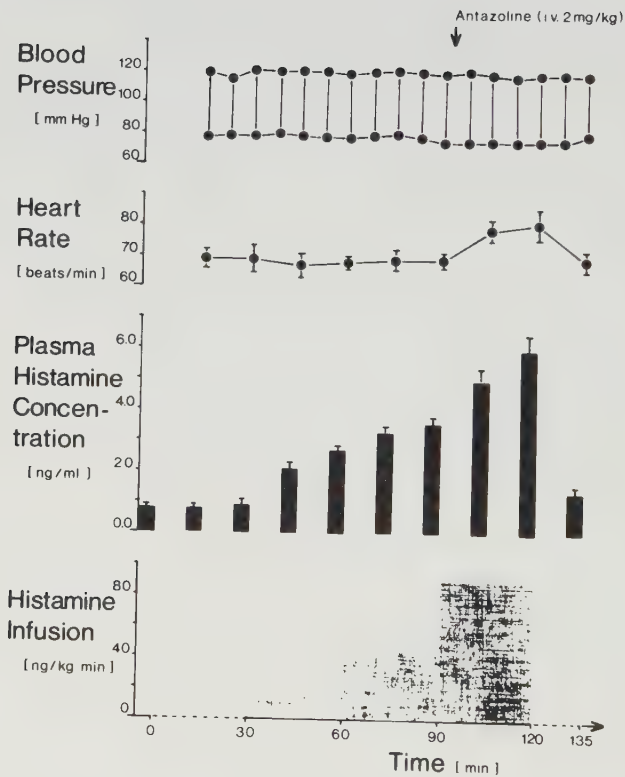


Abb. 10.: Plasmahistaminspiegel bei Infusion von Histamin.

hervorrufen (LAWRIE et al. 1964). Es wurde weiterhin keine Wirkung auf den Blutdruck und die Pulsfrequenz beobachtet (relativ empfindliche Indikatoren einer Histaminfreisetzung). Nur eine Dosis von 90 ng/kg/min. zeigte trotz Anwendung eines Antihistaminikums vom H_1 -Typ einen klinischen Effekt und führte zu einer leichten Tachykardie bei den freiwilligen Versuchspersonen zusammen mit einem leichten Kopfschmerz.

Um die Frage zu untersuchen, ob die Steigerung von Histamin im Plasma während einer Narkose aktuell ein Anwachsen von freiem, pharmakologisch-aktiven Histamin ist, untersuchten wir eine der empfindlichsten Reaktionen des Menschenorganismus auf Histamin. Das ist die Steigerung der Magensäuresekretion.

Die Schnellinjektion von Propanidid (Abb. 11) bei 5 freiwilligen Versuchspersonen führte zu einer etwa halbmaximalen Magensäuresekretion. Das Anwachsen der Säurefreisetzung ging parallel mit dem Anwachsen des Plasmahistaminspiegels. Nach 30 Minuten war der Ausgangswert wieder erreicht. Wenn Mizellophor injiziert wurde, kam es nur zu einer kleinen, nicht signifikanten Erhöhung der Magensaftsekretion.

Auch nach Injektion von Thiopental (Abb. 12) konnte eine Stimulierung der Magensäuresekretion demonstriert werden. Die Säurefreisetzung und

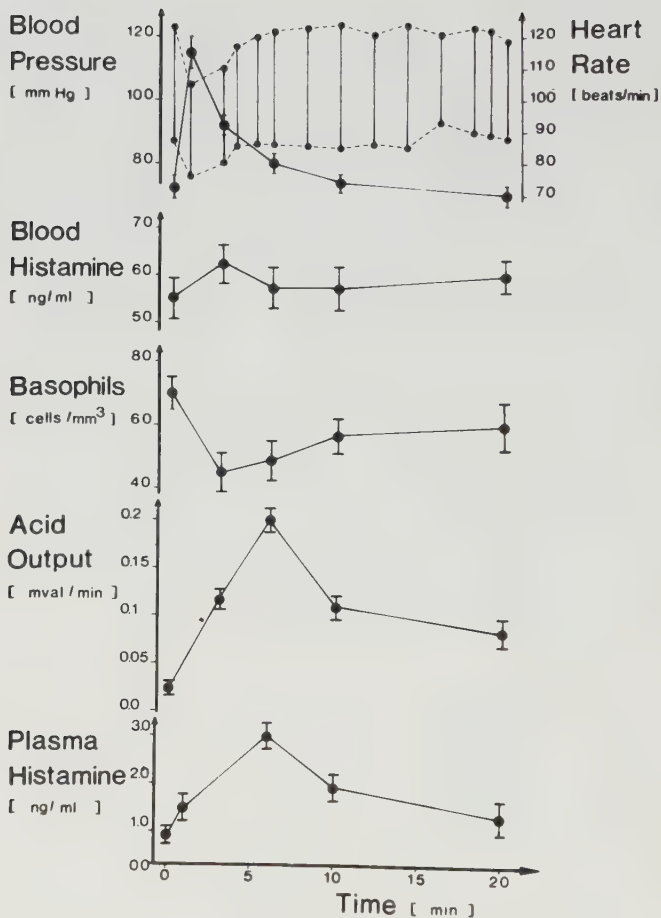


Abb. 11.: Veränderung verschiedener physikalischer und biochemischer Parameter beim Menschen nach Injektion von Propanidid.

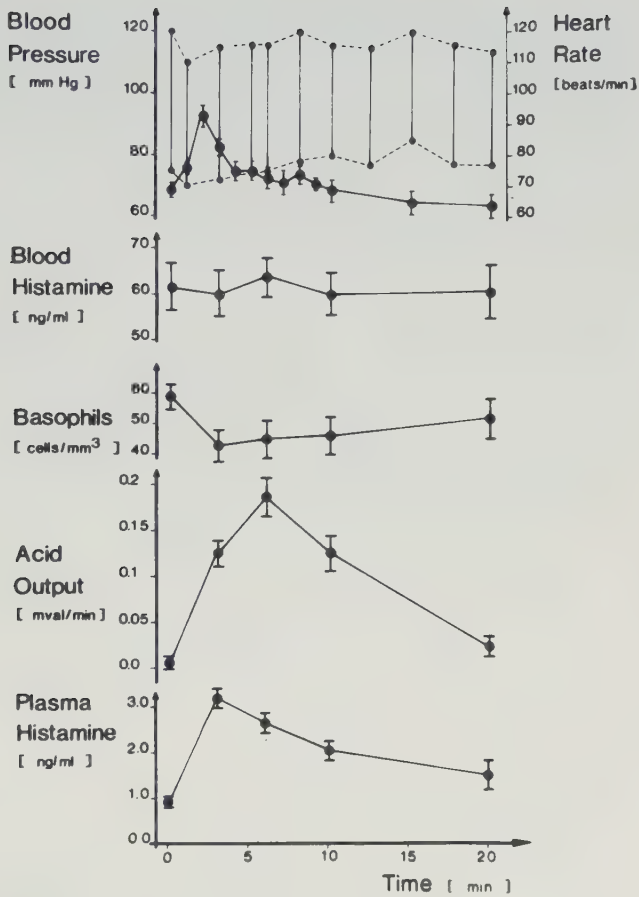


Abb. 12.: Veränderung verschiedener physikalischer und biochemischer Parameter beim Menschen nach Injektion von Thiopental.

die Sekretionskurve waren vollständig übereinstimmend mit denen, welche wir nach Propanidid-Injektionen erhielten. Aus Sicherheitsgründen wurde Thiopental nicht ohne Atropin angewandt. Nach Injektion von 10 ml physiologischer Kochsalzlösung, dem Lösungsmittel von Thiopental, wurde keine Erhöhung der Magensäuresekretion festgestellt.

Während der ersten 5 Minuten nach einer Propanidid-Injektion trat eine Steigerung der Pulsfrequenz ein (Abb. 11). Diese Reaktion ist oft in der Literatur beschrieben worden. Der systolische und diastolische Druck fiel signifikant nur während der ersten 2 Minuten ab. Das ist vor dem maximalen Anstieg des Histaminspiegels. Daher ist es sehr unwahrscheinlich, daß die initiale Tachykardie und die akute periphere Hypertension mit der Freisetzung von Histamin in das Plasma etwas zu tun haben. Dagegen verläuft die Stimulierung der Magensäuresekretion und die Abnahme der Basophilen im Blut beinahe parallel mit dem erhöhten Histaminplasmaspiegel (Abb. 11). Praktisch konnte von einem maximalen Histaminspiegel von 3,1 ng/ml (siehe Histamin-Infusionsversuche Abb. 10) eine Tachykardie oder eine Hypotension nicht erwartet werden.

Nach der Injektion von Mizellophor war weder die Pulsfrequenz noch der Blutdruck erhöht.

Nach Thiopental-Injektion (Abb. 12) war die Pulsfrequenz vorübergehend leicht erhöht, ebenso war der Blutdruck leicht, aber nicht signifikant erniedrigt. Auf Thiopental traten die Veränderungen im Kreislauf früher auf als das Maximum der Histaminplasmaspiegel erreicht war. Die Steigerung der Magensaftsekretion und der Abfall der Basophilen im Blut ging parallel mit dem Anstieg des Plasmahistaminspiegels, aber es war keine Übereinstimmung in den Veränderungen der Pulsfrequenz und des Blutdrucks mit der Freisetzung des Histamins im Plasma zu beobachten, vorausgesetzt, daß bei einem Histaminspiegel von 3,2 ng/ml derartige Veränderungen erwartet werden können.

Von diesen Resultaten ausgehend können folgende Schlußfolgerungen, was die Histaminfreisetzung auf Propanidid und Thiopental betrifft, gezogen werden:

1. Bei Normalpersonen führt die i.v. Injektion beider Narkotika zu einer Freisetzung von Histamin im Plasma, die ausreicht, um die Magensäuresekretion zu steigern, aber nicht ausreichend ist, um das Kreislaufsystem zu beeinflussen.
2. Bei Personen mit abnormalen Histaminverhältnissen oder abnormalem Histaminabbau, wie zum Beispiel bei der allergischen Diathese, kann die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, daß eine Freisetzung von großen

Histaminmengen auf Propanidid und Thiopental dazu führt, daß schwere Kreislaufzwischenfälle auftreten. Solche Zwischenfälle auf Propanidid wurden wie LORENZ et al. (1972 b) bereits beschrieben.

4.4. Plasmahistaminspiegel bei Menschen nach Infusion von Haemaccel

Für die Infusion von Haemaccel und Ringer-Lösung am Menschen wurde die Haemaccel-Charge 2551 besonders untersucht. Sie zeigte eine relativ hohe Häufigkeit für die Freisetzung von Histamin. 10 von 12 Testpersonen reagierten nach der Verwendung dieser Charge mit einem erhöhten Plasmahistaminspiegel, wobei dieselben Personen keine signifikante Histaminfreisetzung nach Ringer-Lösung zeigten (Abb. 13). Blutspende beeinflusste die Plasmahistaminkonzentration nicht. Unabhängig von der Größe der Histaminfreisetzung konnte das Ausmaß derselben klinisch vernachlässigt werden. Die höchsten Plasmahistaminkonzentrationen, die bei den Testpersonen gemessen wurden, betrugen 3,0 ng/ml, die niedrigsten 1,6 ng/ml.

Aus technischen Gründen konnten nur 10 von den 12 Testpersonen, deren Plasmahistaminkonzentration auf die Haemaccel-Infusion (Charge 2551) gemessen wurde, bezüglich ihrer Magensaftsekretion, der Leukozytenzahl, dem Blutdruck und der Pulsfrequenz untersucht werden (Abb. 14).

Histamine release in man by rapid infusion of gelatin

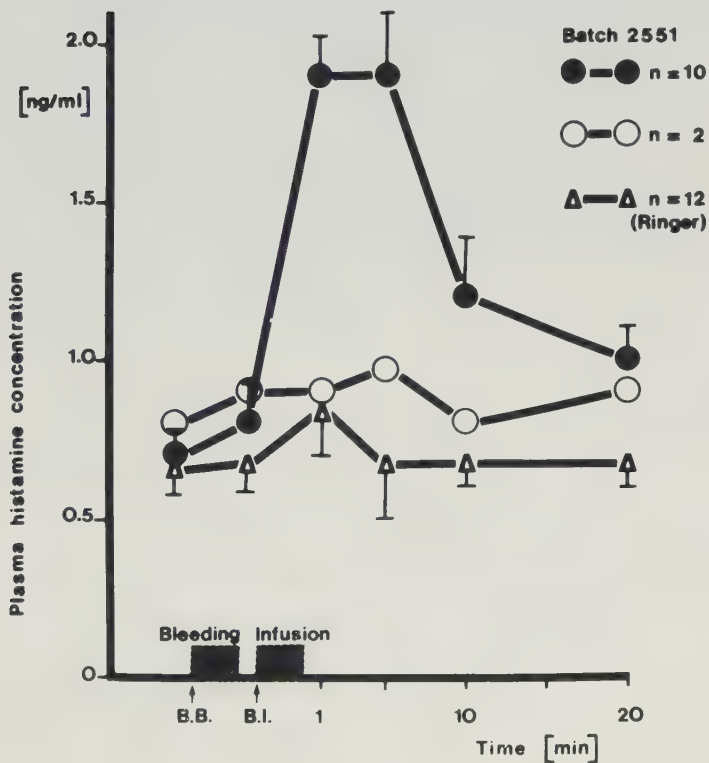


Abb. 13.: Histaminfreisetzung bei Menschen durch Gelatine (Haemaccel^R)

Effects of gelatin on leucocyte concentration, blood pressure and heart rate in man

Haemacel® batch 2551

● reacting subjects
○ non reacting subjects
— Ringer

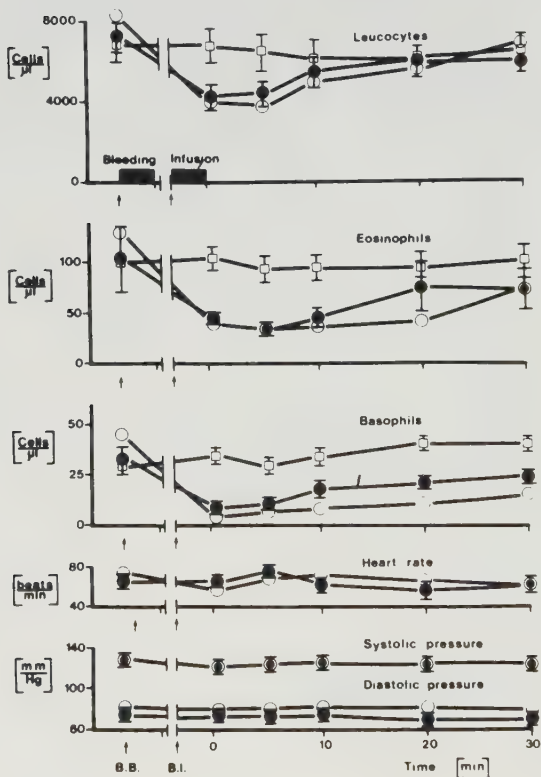


Abb. 14.: Blutbild, Pulsrate und Plasmahistamin-konzentration nach Infusion von Haemacel (Charge 2551).

Unter diesen Versuchspersonen waren jedoch zwei, die keine erhöhten Plasmahistaminspiegel nach der Gelatine-Anwendung zeigten. In Übereinstimmung mit diesen Feststellungen konnte auch keine erhöhte Magensaftfreisetzung bei ihnen gemessen werden (Abb. 15). Weder Blutspende noch eine rasche Infusion von Ringer-Lösung hatten einen signifikanten Einfluß auf die Magensaftsekretion, obwohl die Säuresekretion um ungefähr 70 % 5 Minuten nach der Infusion gestiegen war. Zur gleichen Zeit war die Säureausscheidung auf mehr als 600 % bei den Testpersonen mit Histaminfreisetzung auf die Anwendung von Haemaccel gestiegen. Die Abnahme der erhöhten Magensaftsekretion ging parallel der Abnahme der Plasmahistaminspiegel. Das Maximum der Säuresekretion entsprach einer halb maximalen Saftsekretion, die zur Höhe der Plasmahistaminspiegel paßte.

Gastric acid secretion in man following rapid infusion of gelatin

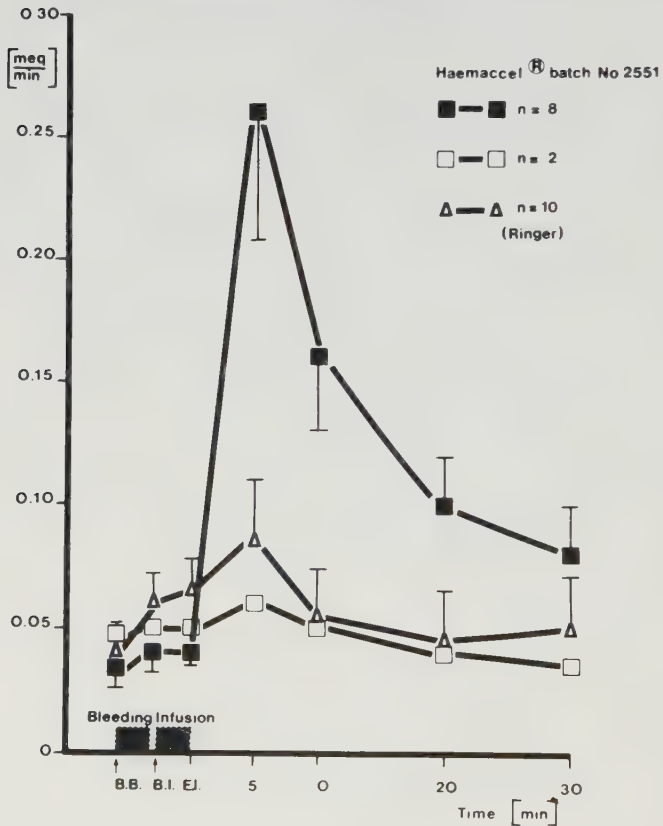


Abb. 15.: Magensaftsekretion nach Infusion von Haemaccel.

DISKUSSION

Auf Grund der gegenwärtigen Resultate gibt es keine Zweifel, daß Histamin vom Menschen in beträchtlicher Menge während einer anaphylaktoiden Reaktion auf Propanidid freigesetzt werden kann. Dieser direkte Zusammenhang gilt nicht für Thiopental, da wir bis jetzt keinen einzigen Zwischenfall bei unseren Versuchspersonen auf Thiopental beobachtet haben.

Weiterhin muß der Schluß gezogen werden, daß auf Grund unserer gegenwärtigen Resultate bei normalen Versuchspersonen durch Propanidid und Thiopental nur geringe Mengen Histamin freigesetzt werden. Die klinischen Auswirkungen dieser zwei Tatsachen differieren jedoch erheblich voneinander.

1. Bei Normalpersonen ist die Histaminfreisetzung relativ klein. Sie führt zur Steigerung der Magensaftsekretion, aber nicht zu einer akuten Kreislaufreaktion. Klinisch ist sie daher von geringer Bedeutung. Atropin vermindert die histaminbeeinflusste Magensaftsekretion und ist daher als Prämedikation zu empfehlen.

Die Histaminfreisetzung bei Normalpersonen hängt von der Injektionsgeschwindigkeit ab (LORENZ et al., 1969). Sie ist nicht abhängig von einer Sensibilisierung, da sie auch nach der ersten Injektion auftreten kann. Diese Beobachtung unterstützt die Tatsache, daß unter diesen Umständen Propanidid und Thiopental als chemische Histamin-Liberatoren oder Coliberatoren funktionieren. Die Histaminfrei-

setzung im Tierexperiment auf beide Narkotika ist bis jetzt noch nicht untersucht worden. Bei Propanidid wurde nur gefunden, daß der Lösungsvermittler Mizellophor bei Hunden Histamin freisetzt.

2. Die Histaminfreisetzung während der beobachteten Zwischenfälle war beträchtlich (LORENZ et al. 1972 b). Manchmal führte sie zu schweren, oft lebensbedrohenden Reaktionen des Kreislaufs und ist daher von großer klinischer Wichtigkeit. Die schweren Histaminzwischenfälle traten bei 3 von 4 Fällen nach der zweiten Injektion von Propanidid auf. Der Zeitpunkt der zweiten Injektion unterstützt die Annahme einer Sensibilisierung. Der Rückgang der Histaminfreisetzung im Verlauf mehrerer Narkosen wie im Falle des einen Patienten bedeutet, daß es eine Desensibilisierung geben kann. Trotz negativer Hautteste kann die Histaminfreisetzung auf immunologischen Prozessen basieren.

In 4 Fällen trat eine "allergische" Reaktion auch auf die erste Injektion auf. In der Literatur wurden Zwischenfälle nicht nur nach der zweiten Injektion, sondern auch nach der ersten Injektion beschrieben. Der Patient in dieser Arbeit zeigte auch abnorm hohe Histaminplasmaspiegel. Nach der derzeitigen Kenntnis ist es nicht gerechtfertigt, Zwischenfälle mit Propanidid ausschließlich auf der Basis von immunologischen Reaktionen zu diskutieren, doch ist es gegenwärtig nicht befriedigend, eine erhöhte Empfindlichkeit von Histamin-Liberatoren oder eine erhöhte Histaminfreisetzung bei einigen Fällen festzustellen, weil das chemische oder morphologische Substrat noch nicht identifiziert wurde.

Die häufigen Zwischenfälle bei Patienten, die bestrahlt wurden oder bei Patienten mit eiternden Prozessen können von Ersterkrankungen herrühren, welche zu einer erhöhten Sensibilisierung gegenüber Histamin-Liberatoren geführt hat. Exakte Untersuchungen in dieser Hinsicht liegen bisher nicht vor. Bezüglich Thiopental steht die Histaminfreisetzung als das Ergebnis einer immunologischen Reaktion im Vordergrund auf Grund aller Fälle, die uns bisher bekannt sind (Literatur siehe oben). Die Frage der Freisetzung anderer vasoaktiver Stoffe bei entsprechenden anaphylaktoiden Reaktionen, wie bei Propanidid oder Thiopentalnarkose beschrieben, läßt eine andere Frage auftauchen, welche pathophysiologische und physiologische Bedeutung die Histaminfreisetzung hat, wenn Histamin von den Mastzellen freigesetzt wird. Als direkter Effekt der Narkose werden auch viele andere Substanzen freigesetzt, wie Serotonin, Katecholamine und Heparin oder proteolytische Enzyme und vasoaktive Peptide, wie zum Beispiel Bradykinin und Kallidin.

Überlegungen auf Grund neuerer Untersuchungen an Schweinen und Hunden (MESSMER et al., 1970, LORENZ et al., 1971 a) helfen vielleicht, eine Antwort auf die Frage zu geben. Wenn Histamin bei diesen zwei Spezies durch den klassischen Histamin-Liberator 48/80 freigesetzt wird oder bei Hunden durch die makromolekularen Substanzen, wie Gelatine, Cremophor oder Mizellophor, dann besteht eine hochsignifikante Korrelation zwischen dem Auftreten eines peripheren Blutdruckabfalles und der Erhöhung der Histaminkonzentration im Plasma. Da gezeigt wer-

den konnte, daß der Blutdruckabfall, aber nicht die Histaminfreisetzung weitgehend durch Antihistaminika im Tierexperiment verhindert werden kann, besteht nicht nur eine zufällige Parallele, sondern ein grundsätzlicher Zusammenhang zwischen Histaminfreisetzung und dem Blutdruckabfall. Wegen der Proportionalität zwischen dem Blutdruckabfall und dem Histaminanstieg kann gefolgert werden, in welchem Umfang auf eine Histaminkonzentration eine schwere Hypotension (über 60 mm Hg) oder sogar ein lebensbedrohendes Ereignis bei den Versuchstieren auftreten kann. Bei Schweinen bewegen sich die Plasmahistaminkonzentrationen in einer Größenordnung von etwa 50 - 100 ng/ml (LORENZ et al., 1971 a), bei Hunden 35 - 90 ng/ml (MESSMER et al., 1970). Hunde und Schweine zeigen fast dieselbe Empfindlichkeit auf Histamin, wenn man den Blutdruckabfall dieser Tiere betrachtet, Menschen haben jedoch zumindest eine zweifache so hohe Empfindlichkeit wie Hunde. Bei der Histaminfreisetzung von 20 - 50 ng/ml kann es deshalb zu schweren Blutdruckabfällen und kardiovaskulären Ereignissen kommen. Diese Histaminkonzentration wurde in der Tat bei zwei unserer untersuchten Fälle gemessen (LORENZ et al., 1972 b)..

Unsere Überlegungen machen es sehr wahrscheinlich, daß die Histaminfreisetzung der wirkliche Grund für die Zwischenfälle, die nach Propanidid-Injektion auftreten, ist. Diese Ansicht wird gestützt durch die Beobachtung, daß der Schweregrad der klinischen Symptome parallel mit der Freisetzung von Histamin geht und daß die Entwicklung und der Grad der klinischen Symptome dem Anstieg und Abfall der Plasmahistaminkonzentration entspricht (LORENZ et al. 1972 b).

Die Freisetzung anderer Gewebshormone kann vielleicht den Histamin-Effekt auf den Kreislauf vergrößern oder verkleinern. Da aber experimentelle Unterlagen über die Zusammenhänge mit solchen Wirkstoffen während der Narkose fehlen, kann die Betrachtung dieser Substanzen bisher weitgehend außer acht gelassen werden.

6.

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Bestimmung von Histaminfreisetzung beim Menschen wurde eine hochempfindliche und spezifische Methode zur Messung von Histamin im menschlichen Plasma entwickelt. Das Amin wurde über Ionenaustauschchromatographie im Dowex 50W-X8 und anschließende Butanolextraktion von fluoreszierenden Begleitstoffen abgetrennt und nach Kondensation mit o-Phthaldialdehyd fluorometrisch bestimmt. 100 ng Histamin pro ml Plasma waren noch nachweisbar, Normalwerte für gesunde Testpersonen betrugen 0,1 - 1,4 ng/ml (Mittelwert 0,69 ng/ml).

Durch Fluoreszenzspektren, Abbau mit gereinigter Diaminoxidase und Inaktivierung durch gereinigte Histaminmethyltransferase konnte die aus Plasma isolierte Substanz als Histamin identifiziert werden.

Durch Narkotika, wie Propanidid und Thiopental und Blutersatzmittel, wie Haemaccel, konnte mit der geschilderten Plasmahistaminmethode erstmals beim Menschen Histaminfreisetzung nachgewiesen werden. Durch den Nachweis von Magensaftstimulierung gelang es, das im Plasma auftretende Histamin als biologisch wirksam zu beweisen. Durch Infusion von exogenem Histamin wurden beim Menschen Histaminspiegel im Plasma erzeugt, die denen bei Histaminfreisetzung entsprechen. Die klinischen Symptome waren dabei dieselben wie bei Histaminfreisetzung entsprechenden Ausmaßes.

Damit gelang es in dieser Arbeit erstmals, eine klinische bzw. pathophysiologische Funktion von Histamin beim Menschen nachzuweisen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Adam, H.M., Hardwick, O.C. and Spencer, K.E.V.:
Method for determination of histamine in plasma.
Brit. J. Pharmacol. 12, 397 (1957)
2. Anderton, J.M. and Hopton, D.S.: Thiopentone ana-
phylaxis: a hazard of multiple cystoscopic exami-
nations under general anaesthesia. Anaesthesia 23, 90 (1968)
3. Beck, L.: Erfahrungen mit dem Kurznarkotikum Pro-
panidid in der Geburtshilfe. Anaesth. Wiederbel. 4,
223 (1965). Heidelberg-Berlin-New York: Springer
4. Burton, A.C.: Physiology and Biophysics of the
Circulation. (German ed., 1969), p. 178 (1965).
Stuttgart: Schattauer.
5. Currie, L.E.S. and Buchanan, R.L.: Thiopentone ana-
phylaxis. Anaesthesia 22, 290 (1967)
6. Currie, T.T., Wittingham, S., Ebringer, A. and Peters,
J.S.: Severe anaphylact-ic reaction to thiopentone:
case report. Brit.med. J. 1, 1462 (1966)
7. Dannemann, H. und Lübke, P.: Komplikationen während
Narkosen mit Epontol. Z. prakt. Anaesth. Wiederbel. 4,
273 (1970)
8. Doenicke, A. und Lorenz, W.: Histaminfreisetzung und
anaphylaktische Reaktionen bei Narkosen. Biochemi-
sche und klinische Aspekte. Anaesthesist 19, 413-
417 (1970)

9. Graham, H.T., Lowry, O.H., Wheelwright, F., Lenz, M.A. and Parish, H.H.: Distribution of histamine among leucocytes and platelets. *Blood* 10, 467 (1955)
10. Graham, H.T., Scarpellini, J.A.D., Hubka, B.P. and Lowry, D.H.: Measurement and normal range of free histamine in human blood plasma. *Biochem. Pharmacol.* 17, 2271 (1968)
11. Hamerston, D., Elvebach, L., Halberg, F. and Gully, R.J.: Correlation of absolute basophil and eosinophil counts in blood from institutionalized human subjects. *J. Appl. Physiol.* 9, 205 (1956)
12. Hayward, J.R., Kiester, G.L.: Severe allergic reaction during thiopental sodium anaesthesia: report of case. *J. oral Surg.* 15, 61 (1957)
13. Heinecker, R.: EKG-Fibel, p. 27 (1970). Stuttgart: Thieme
14. Henschel, W.F. and Buhr, G.: Kreislaufuntersuchungen während der Propanidid-Kurzsnarkose. *Anaesth. Wiederbel.*, 4, 227 (1965). Heidelberg-Berlin-New York: Springer
15. Holmstedt, B. and Tham, R.: A spectrophotometric method for determination of diamine oxidase (DAO) activity, *Acta Physiol. Scand.* 46, 152 (1959)
16. Hunter, A.R.: Dangers of pentothal sodium anaesthesia. *Lancet* 1, 46 (1943)
17. Johns, G.: Cardiac arrest following induction with propanidid. *Brit. J. Anaesth.* 42, 74 (1970)

18. Katz, D. und Siegel, H.J.: Progr. Gastroenterol. 1, 67 (1968)
19. Kay, B.: Hypotensive reaction after propanidid and atropine. Brit. med. J. 2, 413 (1969)
20. Krüger, H.W.: Anaphylaktischer Schock nach Epontol-Narkosen. Geburtsh. u. Frauenheilk. 30, 37 (1970)
21. Kusche, J.: Bestimmung von Ammoniak abspaltenden Enzymen unter besonderer Berücksichtigung der Diaminoxidase. Dissertation Universität München (1970)
22. Lowrie, J.H., Smith, G.M.R. und Forrest, A.P.M.: The histamine-infusion test. Lancet 2, 270 (1964)
23. Lorenz, W., Barth, H., Kusche, J., Reimann, H.J., Schmal, A., Matejka, E., Mathias, Ch., Hutzel, M. and Werle, E.: Histamine in the Pig. Determination, Distribution, Release and Pharmacological Actions. Europ. J. of Pharmacol. 14, 155 (1971 a)
24. Lorenz, W., Meyer, R., Doenicke, A., Schmal, A., Reimann, H.-J., Hutzel, M. and Werle, E.: On the species specificity of the histamine release from mast cell stores by Cremophor-El, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 269, 417 (1971 b)
25. Lorenz, W., Benesch, L., Barth, H., Matejka, E., Meyer, R., Kusche, J., Hutzel, M. and Werle, E.: Fluorometric assay of histamine in tissues and body fluids: Choice of the purification procedure and identification in the nanogram range. Z. Analyt. Chem. 252, 94 (1970 b)

26. Lorenz, W., Kusche, J. und Werle, E.: Über eine neue Methode zur Bestimmung der Diaminoxidase-Aktivität. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 348, 561 (1967)
27. Lorenz, W. und Pfleger, K.: Stoffwechsel und physiologische Funktion von Histamin im Magen. Klin. Wschr. 46, 57 (1968)
28. Lorenz, W., Kusche, J., Hahn, H. and Werle, E.: Determination of Activity of Diamine Oxidase, Urease and Histidine Ammonia-Lyase by Enzymatic Assay of Ammonia. Z. Analyt. Chem. 243, 259 (1968)
29. Lorenz, W., Doenicke, A., Meyer, R., Reimann, H.-J., Kusche, J., Barth, H., Geesing, H., Hutzler, M. and Weissenbacher, B.: An improved method for the determination of histamine release in man: Its application in studies with propanidid and thiopentone. Europ. J. Pharmacol. 19, 180 (1972)
30. Lorenz, W., Doenicke, A., Meyer, R., Reimann, H.-J., Kusche, J., Barth, H., Geesing, H., Hutzler, M. and Weissenbacher, B.: Histamine release in man by propanidid and thiopentone: Pharmacological effects and clinical consequences. Brit. J. Anaesth. 44, 355 (1972 b)
31. Lorenz, W., Seidel, W., Doenicke, A., Tauber, R., Reimann, H.-J., Uhlig, R., Mann, G., Dormann, P., Schmal, A., Häfner, G. and Hamelmann, H.: Elevated plasma histamine concentrations in surgery: Causes and clinical significance. Klin. Wschr. 52, 419 (1974)

32. Lorenz, W., Schauer, A., Halbach, St., Calvoer, R. und Werle, E.: Biochemical and histochemical studies on the distribution of histamine in the digestive tract of man, dog, and other mammals. Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharm. exp. Path. 265, 81 (1969)
33. Lorenz, W., Doenicke, A., Halbach, S., Krumei, I. und Werle, E.: Histaminfreisetzung und Magensaftsekretion bei Narkosen mit Propanidid (Epontol^R). Klin. Wschr. 47, 154 (1969 a)
34. Lorenz, W. und Doenicke, A.: Biochemie und Pharmakologie der Histaminfreisetzung durch intravenöse Narkosemittel und Muskelrelaxantien. Anaesthesie u. Wiederbelebung 74, 179 (1973)
35. Lorenz, W., Reimann, H.-J., Barth, H., Kusche, J., Meyer, R., Doenicke, A. and Hutzl, M.: A sensitive and specific method for the determination of histamine in human whole blood and plasma. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 353, 911 (1972 a)
36. Lorenz, W., Hell, E., Boeckl, O., Reimann, H.-J., Zimmermann, G., Seidel, W., Laszcz, M. and Uhlig, R.: Histamine release during orthotopic homologous liver transplantation in pigs. Europ. Surg. Res. 5, 11 (1973)
37. Lorenz, W., Doenicke, A., Feifel, G., Messmer, K., Meyer, R., Benesch, L., Barth, H., Kusche, J., Hutzl, M. und Werle, E.: Histamine release in man by propanidid (Epontol^R), gelatine (Haemaccel^R) histalog, pentagstrin and insulin. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharm. 266, 396 (1970 a)

38. Lorenz, W., Doenicke, A., Messmer, K. and Reimann, H.-J.: Histamine release in man and dog by plasma substitutes. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 29, Suppl. 4, 31 (1971)
39. Lorenz, W., Doenicke, A., Reimann, H.-J., Thermann, M., Tauber, R., Schmal, A., Dormann, P., Hensel, H., Hamelmann, H. and Werle, E.: Plasma histamine de-termination in man and dog following the infusion of plasma substitutes: models for histamine release under pathophysiological conditions. *Agents and Actions* 3, 183 (1973 a)
40. Lorenz, W., Matejka, E., Schmal., A., Seidel., W., Reimann, H.-J., Uhlig, R. and Mann, G.: A phylogenetic study on the occurrence and distribution of histamine in the gastro-intestinal tract and other tissues of man and various animals. *Comp. Gen. Pharmacol.* 4, 229 (1973 b)
41. Lorenz, W., Barth, H., Thormann, M., Schmal., A., Dormann, P. and Niemeyer, I.: Fluorometric histamine determination in canine plasma at normal conditions, following application of exogenous histamine and during histamine release by Haemaccel^R. Hoppe-Seylers *Z. Physiol. Chem.* 355, 1097 (1974 a)
42. Manz, R. and Frank, G.: Zur Frage allergischer Reaktionen nach Epontol. *Anaesthesist* 18, 223 (1969)
43. Meyer-Burgdorff, C., Seidel, G., Schlüter, F.J.: *Anaesthesist* 22, 212 (1973)

44. Messmer, K., Lorenz., W. Sunder-Plassmann, L., Klövekorn, W. and Hutzel, M.: Histamine release as cause of acute hypotension following rapid colloid infusion. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharm. 267, 433 (1970)
45. Michel, C.F.: Die Anwendung von Propanidid in der Gynäkologie. Anaesth. Wiederbel. 4, 225 (1965). Heidelberg: Springer
46. Miller, R.L., McCord, C., Sanda, M., Bourne, H.R. and Melmon, K.L.: J. Pharmacol. Exp. Ther. 175, 228 (1970)
47. Mongar, J.L. and Schild, H.O.: Inhibition of histamine release in anaphylaxis. Nature (Lond.) 176, 163 (1955)
48. Moore, R.H.: Drug eruption after sodium pentothal. Brit. med. J. 2, 209 (1946)
49. Moore, J.E. and James, G.W.: A simple direct method for absolute basophil. leucocyte count. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 83, 601 (1953)
50. Müller, von, F., Seifert, O. and v. Kress, H.: Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik, p. 453 (1962). München: J.F. Bergmann
51. Paton, W.D.M.: The mechanism of histamine release; in Ciba Foundation, Symposium on Histamine, p. 59 (1956). London: Churchill.
52. Paton, W.D.M.: Histamine release by compounds of simple chemical structure. Pharmacol. Rev. 2, 269 (1957)

53. Radway, P.A.: Allergic and anaphylactic reactions, decrease in blood pressure after propanidid. Acta anaesth. scand., Suppl. 17, 80 (1965)
54. Seidel, W., Lorenz, W., Doenicke, A., Mann, G. und Uhlig, R., Rohde, H.: Histaminfreisetzung beim Menschen u. Streßulkuspathogenese. Z . Gastroenterol. 11, 297 (1973)
55. Shinohara, S. and Inamoto, A.: A statistical study of bronchospasm. (Japanese.) Jap. J. Anaesthesiol. 14, 612 (1965)
56. Shore, P.A., Burkhalter, A. and Cohn, V.H.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 127, 182 (1959)
57. Strunk, H.A.: Reaction to thiopental. Anesthesiology 23, 271 (1962)
58. Werle, E. and Lorenz, W.: The antikinin action of some antihistaminic drugs on the isolated guinea-pig ileum, rat uterus and blood pressure of the anesthetized dog. Advanc. exp. Biol. Med. 8, 447 (1970)
59. Werle, E., Trautschold, J. and Aures, D.: Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie 326, 200 (1961).

Für die Überlassung des Themas bedanke ich mich bei Herrn Professor Dr. A. DOENICKE. Für die wertvolle Unterstützung und Anregung bei der Entwicklung der Methodik und bei der praktischen Durchführung danke ich Herrn Professor Dr. W. LORENZ. Mein ehrerbietiges Gedenken gilt Herrn Professor Dr. Dr. E. WERLE dafür, daß ich in seinem Institut arbeiten durfte.

Lebenslauf:

Als Sohn des Dr. Gerhard Meyer-Uhl und seiner Frau Ingeborg,
geb. Beck, am 08.08.1943 in Breslau-Lissa geboren.

1949 Eintritt in die Volksschule in Tutzing

1953 Besuch des Realgymnasiums in Tutzing

1962 Abitur am Realgymnasium in Tutzing

1964 Pharmazeutisches Vorexamen in München

1965 Beginn des Medizinstudiums an der Universität in München

1968 Physikum an der Universität in München

1972 Medizinisches Staatsexamen an der Universität in München

1973 Medizinalassistentenzeit in Tutzing

06.08.1974 Approbation als Arzt

